

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Mgr. Ondřej Pomahač

Diverzita améboflagelátů a améboidních bičíkovců

Diversity of amoebflagellates and amoeboid flagellates

Bakalářská práce

Školitel:
prof. RNDr. Ivan Čepička, Ph.D.

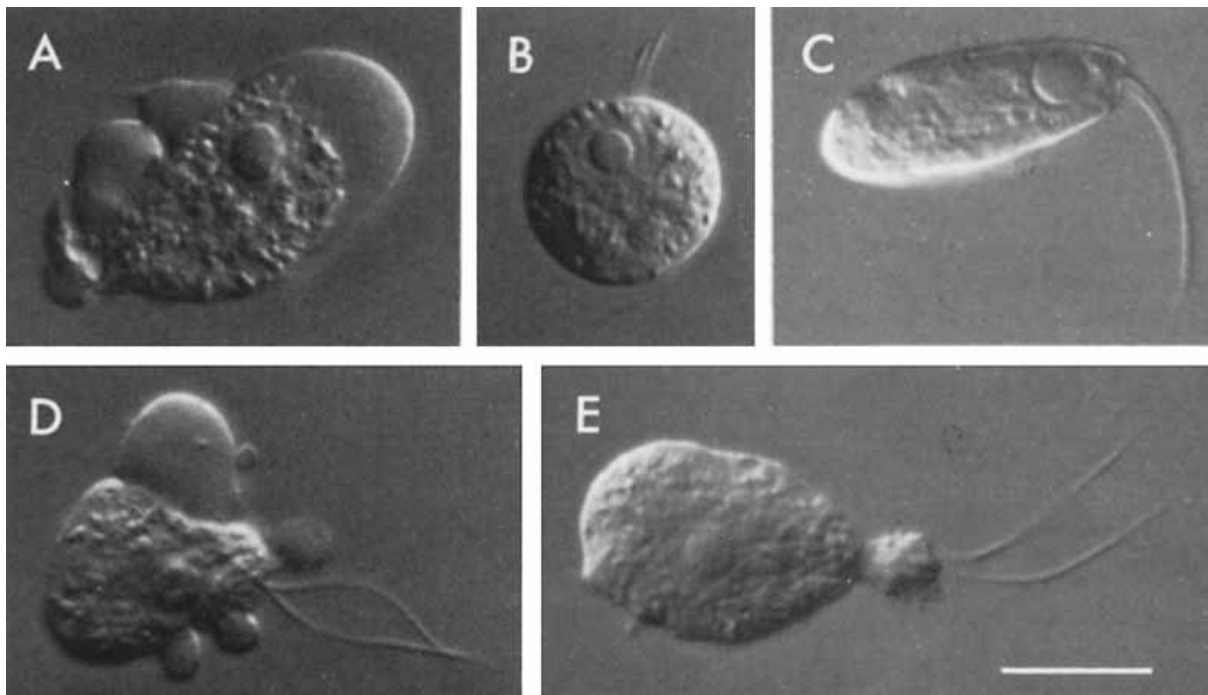
Praha, 2019

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 8. 5. 2019

Ondřej Pomahač



Různé podoby améboflageláta *Naegleria gruberi* podle Fulton 1977.

Děkuji svému školiteli prof. Ivanu Čepičkovi za vedení práce, cenné rady, ochotu a trpělivost. Děkuji i za to, že mi dal šanci, abych se z hlediska svého odborného zaměření pokusil o podobně smělou transformaci, jakou podstupují organismy popisované v této práci.

Abstrakt

Améboidní bičíkovci jsou nezanedbatelnou formou protistních organismů. Vykazující znaky obou základních forem protist, bičíkovce a měňavky. Vyskytují se v několika skupinách zahrnujících Amoebozoa, CRuMs, Obazoa a Sar. Améboflageláti jsou protistní organismy zahrnující ve svém životním cyklu přeměnu z améby na bičíkovce a naopak. V nejtypičtější podobě je tato transformace reverzibilní (např. *Heterolobosea*, *Myxogastria*). Tyto organismy najdeme také hned v několika liniích: Amoebozoa, Excavata, Sar a Obazoa. Tato práce představuje rekapitulaci aktuální známé diverzity obou typů protist a věnuje se jak typickým, tak zvláštním a nejednoznačným případům. Stručně shrnuje poznatky o améboflagelátní transformaci u modelových organismů *Naegleria gruberi* a *Physarum polycephalum*. S důkladnějším studiem životních cyklů protist v kulturách i simulovaných přírodních podmínkách se dá očekávat další lepší vhled do komplikovaného světa forem a fenotypů protist a jejich mechanismů.

Klíčová slova: améboflagelát, améboidní bičíkovec, bičíkovec, améba, diverzita, améboflagelátní transformace

Abstract

Amoeboid flagellates represent an important form of protist organisms, showing features of both basic forms of protist, flagellate and amoeba. They occur in several groups including Amoebozoa, CRuMs, Obazoa and Sar. Amoeboflagellates are protist organisms able to transform from an amoeba to a flagellate and *vice versa* during the life cycle. In the most typical form, the transformation is reversible (e.g., Heterolobosea, Myxogastria). These organisms occur in several different lineages as well: Amoebozoa, Excavata, Sar and Obazoa. My thesis presents a recapitulation of the currently known diversity of both amoeboid flagellates and amoeboflagellates and deals with both typical and ambiguous cases. It briefly summarizes the knowledge of amoeba-to-flagellate transformation in the model organisms *Naegleria gruberi* and *Physarum polycephalum*. With a more thorough study of protist life cycles in both, cultures and simulated natural conditions, further insight into the complicated world of protist forms and phenotypes, and their mechanisms can be expected.

Key words: amoeboflagellate, amoeboid flagellate, flagellate, amoeba, diversity, amoeba-to-flagellate transformation

Obsah

Úvod a vymezení pojmů	1
Diverzita améboidních bičíkovců.....	4
Amoebozoa.....	4
Obazoa.....	6
Breviatea.....	6
Apusozoa	7
Opisthokonta	8
CRuMs.....	8
Sar	9
Rhizaria	9
Diverzita améboflagelátů.....	14
Anaeramoebidae (Eukaryota <i>incertae sedis</i>)	14
Amoebozoa.....	14
Obazoa.....	18
Sar	18
Stramenopiles.....	18
Rhizaria	19
Excavata.....	20
Závěr	24
Citovaná literatura	25

Úvod a vymezení pojmů

U protistních organismů rozeznáváme obvykle dva základní fenotypy, bičíkovce (flageláta) a měňavku (amébu). Tyto dva fenotypy můžeme pro potřeby této práce chápat jako kontinuum, na kterém se nachází protistní organismy, které nás budou zajímat. Kvůli zkušenosti s makroskopickými, tedy zejména mnohobuněčnými, organismy máme intuitivní tendenci spojovat druhy s určitým stabilním fenotypem či přesněji morfologickým vymezením. Ta se buď nemění, nebo se mění, ale ve víceméně oddělených stadiích životního cyklu, pro která máme zvláštní pojmenování. V mikroskopickém světě protist je však taková představa poněkud zavádějící. Jednak se zde organismy nezdá náhodou nacházet na různých místech kontinua bičíkovec–měňavka a jednak jsou schopny svůj fenotyp z různých příčin během svého života reverzibilně měnit.

Cílem této práce je zmapovat známou diverzitu améboidních bičíkovců a améboflagelátů. Nejde tedy o diverzitu konkrétních fylogenetických či taxonomických skupin organismů, ale o diverzitu specifické morfologie jednobuněčných organismů, resp. o přítomnost určitých forem v rámci jejich životního cyklu napříč jednotlivými fylogenetickými či taxonomickými skupinami, z čehož plynou i určitá omezení. Je totiž třeba hned dodat, že protistologie prochází v posledních letech natolik překotným vývojem, že si nemůžeme klást za cíl ani úplnost, ani naprostou aktuálnost výčtu příslušných organismů. Není v našich silách projít veškerou primární literaturu za účelem odhalení všech relevantních druhů a musíme se v tomto ohledu spolehnout na přehledové práce, aby nám pomohly se základním vymezením taxonů, kde améboidní bičíkovce a améboflageláty hledat. Zdrojem obecných informací a základní kostrou pro náš výčet bude systematika eukaryot od Adla et al. (2012, 2019) a *Handbook of the Protists* (Archibald et al. 2017)¹, protože se jedná o poměrně detailní a nejnovější soubory informací o aktuálně známé diverzitě protist.

Jako první krok je nutné mít nějakou pracovní definici toho, co vlastně budeme hledat. Améboidní bičíkovci jsou protistní organismy, které se alespoň jedním svým fenotypem nacházejí někde mezi krajními polaritami kontinua bičíkovec–měňavka, tj. vykazují současně jak znaky bičíkovce (mají bičík, který mohou použít k pohybu), tak znaky měňavky (tvoří pseudopodie nebo jim podobné útvary a používají je k pohybu nebo adhezi, případně jen k příjmu potravy – v každém případě mají podstatný vliv na formu či morfotyp buňky). Oproti tomu améboflagelát je organismus, který je schopen nabývat jak fenotypu bičíkovce, tak měňavky a mezi těmito dvěma podobami je

¹ Z důvodu citace řady kapitol z knihy *Handbook of the Protists* (Archibald et al. 2017) si kvůli úspoře místa a přehlednosti textu dovolíme uvádět v citacích odkazy na celou knihu.

schopen přeměny, přestavby cytoskeletu, tvorby bičíků *de novo* a někdy dokonce i tvorby bazálních tělísek *de novo* (*Naegleria*).

Už z těchto pracovních definic, však zjevně vyvstává určitý problém. Zatímco pojem „améboidní bičíkovec“ je popisem morfortypu, fenotypu či formy organismu, pojem „améboflagelát“ naproti tomu označuje buď části, nebo o celý životní cyklus organismu. Jinými slovy, nejde o dvě disjunktní množiny. Améboidní bičíkovec totiž může být součástí životního cyklu améboflageláta, který má jak měňavku, tak bičíkovce s améboidními znaky.

Nedorozumění by také mohlo způsobit označování každého nabývaného fenotypu či formy améboflagelátů jako stadia. Obvyklé chápání stadia totiž sugeruje sled jednotlivých nabývaných fenotypů jako postupných stadií životního cyklu probíhajících v jednom směru. Vzhledem k tomu, že v případě améboflagelátů jsou většinou přeměny z jednoho fenotypu na druhý reverzibilní, nelze je chápat nutně jako cyklus v pravém slova smyslu. Proto bychom ani nedoporučovali hovořit o nich primárně jako o stadiích (nutných sukcesivních krocích) životního cyklu, nýbrž jako formách (možných podobách), které jsou součástí životního cyklu.

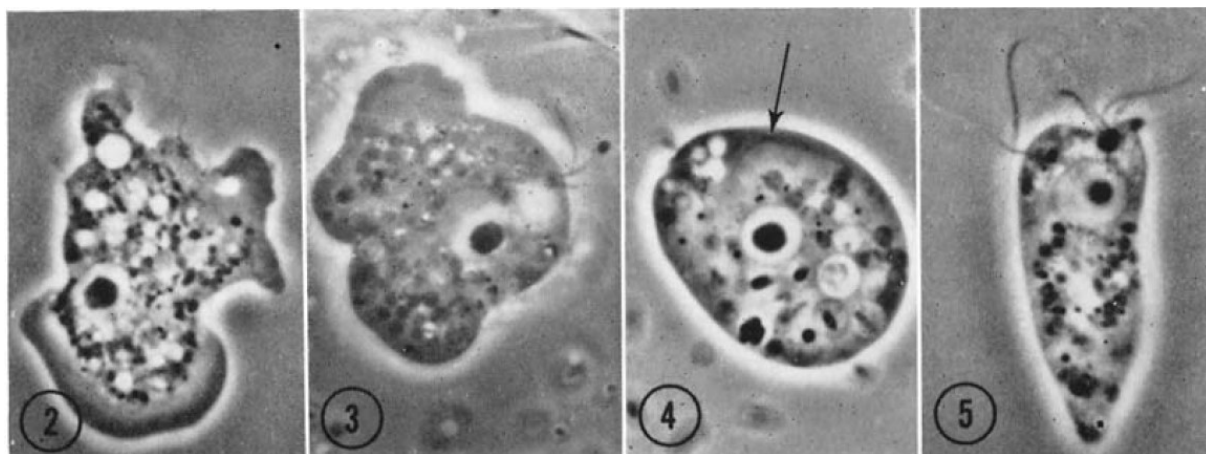
Jak se brzy ukáže, nyní možná zdánlivě jasná hranice se nakonec poněkud rozmlží. To ovšem neubírá na smyslu samotné snahy o klasifikaci morfologických fenotypů protist, která jde ruku v ruce s jejich lepším pochopením. Podobné pokusy mohou sloužit jako žebřík, díky němuž se dostaneme na další úroveň popisu, abychom se ho posléze mohli zbavit.

S jistými obtížemi se v případě zmíněných typů organismů potýkáme i v názvosloví objevujícím se v literatuře, které se teprve začíná stabilizovat a prochází poměrně překotnými změnami společně s tím, jak přibývá poznatků o jednotlivých skupinách protist, jejich morfortypech a jejich fylogenetických vztazích. V současné literatuře je možné se setkat především s pojmy „*amoebflagellate*“ a „*amoeboid flagellate*“, ovšem ne nutně v těch významech, které jim připisujeme v této práci. Dalším typem pojmenování je „*amoebociliate*“ používané soustavně Adlem et al., které problém pojmenování ještě dále komplikuje (Adl et al. 2012, 2019). Důvod je zřejmě v tom, aby označení „flagellum“ zůstalo jen pro Prokaryota a „cilium“ pro Eukaryota. Nicméně tato terminologie by v důsledku přinesla ještě zásadnější zmatení kvůli označení „ciliate“ pro bičíkovce i pro nálevníky (Ciliata). Ustálení názvosloví v jakémkoli směru by bylo ovšem žádoucí.

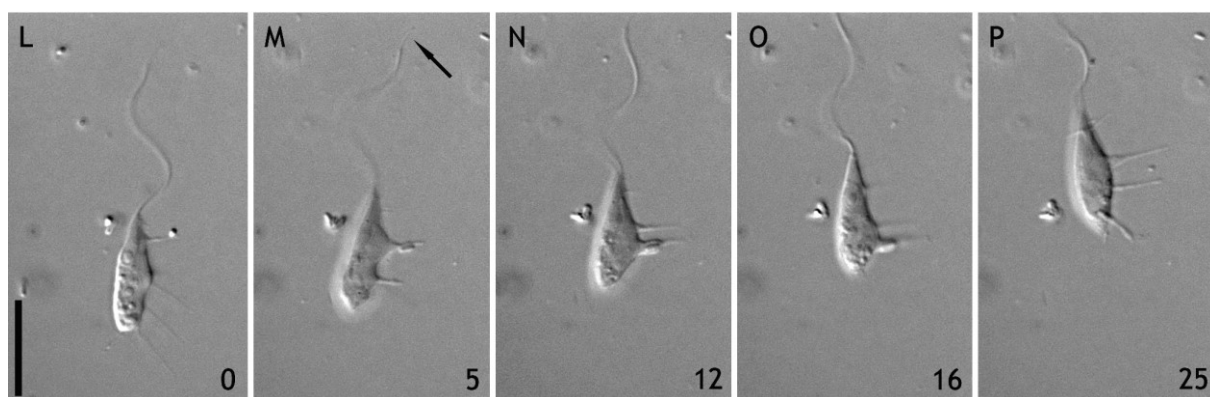
Na závěr ještě několik důležitých poznámek. Z případů, kdy autoři přehledových studií (Adl et al. 2012, 2019) hovoří o „zoosporách“, zahrnujeme do práce jen ty, u kterých je současně přítomna v životním cyklu i měňavka. Úmyslně se nebudeme věnovat metazoím, houbám (Fungi) a houbám příbuzným organismům (Holomycota), protože jimi se zabývají speciální biologické disciplíny a také by jejich zohlednění překročilo rozsah této práce. Stejně tak pomineme i případy, kdy jsou bičíkatá stadia prokazatelně gametami, ačkoli by jinak naši definici améboflageláta splňovaly. Dá se totiž

očekávat, že řada protist má kryptické sexuální rozmnožování, avšak nebylo cílem práce toto téma sledovat. Náš zájem spočívá v reverzibilních změnách mezi bičíkovci a amébami bez změny ploidie.

V následující hlavní části práce postupně probereme skupiny a jednotlivé zástupce nejprve améboidních bičíkovců a následně améboflagelátů s tím, že vždy upozorníme, pokud se u daného améboflageláta bude vyskytovat i forma améboidního bičíkovce nebo pokud bude mít daný améboidní bičíkovec nakročeno k tomu být chápán také jako améboflagelát. Toto trochu krkolomné jazykové cvičení má svůj smysl v tom, aby připravilo čtenáře na spletitou a bohatou diverzitu protistních forem. U modelových organismů pro améboflagelátní transformaci *Naegleria gruberi* (Heterolobosea) a *Physarum polycephalum* (Myxogastria) stručně poukážeme i na dosavadní poznatky o mechanismem a okolnostech tohoto procesu.



Obr. 1. Vlevo měňavka a vpravo bičíkovec améboflageláta *Tetramitus rostratus* (Heterolobosea) podle Outka & Kluss 1967.



Obr. 2. Améboidní bičíkovec *Breviata anathema* podle Brown et al. 2013. Měřítka 10 μm .

Diverzita améboidních bičíkovců

Améboidní bičíkovci nebo bičíkaté améby (termín používaný Adlem et al. 2019), tedy protistní organismy vykazující současně jak znaky bičíkovce (mají bičík), tak znaky měňavky (tvoří pseudopodie nebo jim podobné útvary používané k pohybu, adhezi nebo v měkčí variantě k výživě – v každém případě mají améboidní znaky podstatný vliv na formu buňky), jsou v současné době doloženi zejména ve skupinách Rhizaria, Obazoa a Amoebozoa (Adl et al. 2012, 2019; Archibald et al. 2017). V této kapitole se zaměříme zejména na organismy vykazující formu améboidního bičíkovce a zároveň o nich není známo nebo jisto, že by byly současně améboflageláty, tj. tvořily by i čistě měňavkovité stadium s transformací do bičíkovce. Už u první skupiny ovšem narazíme na fakt, že to nebude vůbec snadný úkol. Podle nedávné fylogenetické studie patří všechny námi probírané skupiny améboidních bičíkovců z amébozoí do skupiny Archamoebae (Evosea) (Kang et al. 2017). U archaméb je podle nás améboidní bičíkovec dalo by se říci základní fenotyp. U dalších skupin v rámci evoseí se také vyskytují améboidní bičíkovci, ty jsou ovšem součástí komplexního životního cyklu, ve kterém obvykle bývá přítomné i stadium bez bičíku, proto budeme tyto organismy probírat s améboflageláty. Vedle toho je v amébozích už znám jen jeden další rod vykazující vlastnosti améboidních bičíkovců, a to rod *Multicilia* (Variosea).

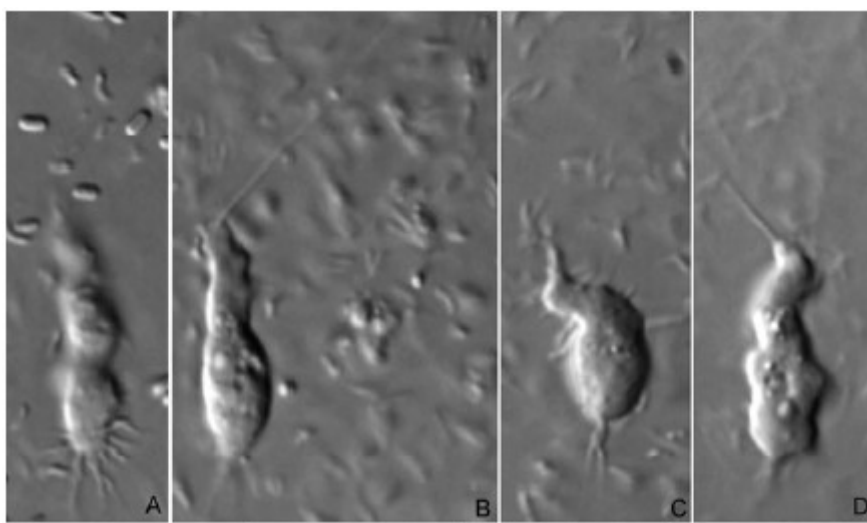
Amoebozoa

Typickým znakem odlišujícím archaméby od jiných podobných améboidních bičíkovců je hyalinní cytoplasma umožňující tvorbu půlkruhových pseudopodií zejména v přední části buňky (Archibald et al. 2017). My se budeme soustředit na skupiny Mastigamoebidae, Pelomyxidae a Rhizomastixidae.

Pro mastigaméby je charakteristický améboidní bičíkovec s jedním předním bičíkem spojeným s tzv. konem, mikrotubulárním košem. Ten vyrůstá z jediného bazálního tělíska a může být asociován s jádrem buňky. Bičíky vykazují také jistou zvláštnost v tom, že jim chybí jinde běžná vnější dyneinová raménka (Ptáčková et al. 2013). U endobiotických druhů jako *Endolimax nana* a *Iodamoeba buetschlii* se bičík nenachází a předpokládá se jeho sekundární ztráta (Ptáčková et al. 2013). Mastigaméby se na rozdíl od ostatních améboidních bičíkovců dokážou pohybovat klouzáním po bičíku směřujícím dopředu. Byla popsána řada druhů, které by odpovídaly čistě améboidnímu bičíkovci, tj. nikoli zároveň améboflagelátovi (ty probereme v další kapitole). Je to např. *Mastigamoeba abducta*, *M. guttula* nebo *M. lenta* (Ptáčková et al. 2013). Nicméně u všech jmenovaných druhů byly pozorovány také bezbičíkaté měňavky, ovšem spíše sporadicky (Ptáčková et

al. 2013). To nás staví před otázku, zda jde o další formu a tyto mastigaméby bychom měli prohlásit za améboflageláty, nebo jde o artefakty. Řešením bude zřejmě jen další studium těchto organismů.

U rodu *Pelomyxa* (Pelomyxidae) může být počet bičíků dokonce poměrně velký. Bičíky se mohou nacházet po celém obvodu buňky (např. *Pelomyxa flava* (Frolov et al. 2010), jindy jsou velmi krátké a špatně viditelné *P. schiedti* (Zadrobílková et al. 2015) nebo se koncentrují na uroidu (*P. paradoxa* (Chystjakova et al. 2014)). Bičíky bývají nepohyblivé a výrazně kratší než u jednobíčíkatých rodů (Zadrobílková et al. 2015). Nicméně z vlastního pozorování víme, že bičíky mohou být i pohyblivé. Pelomyxy mají obvykle velké až obří (několikamilimetrové) mnohojaderné měňavkovité formy (plasmodia) s uroidem, u kterých je při pohybu vpřed patrný zpětný proud granuloplasy a eruptivní lobopodie na posteriorním pólu buňky (Archibald et al. 2017). Zároveň jsou však studie, které popisují komplexnější životní cyklus druhů rodu *Pelomyxa palustris*, *P. corona* atd. zahrnující stadia s různým počtem jader a zřejmě i stadia bez bičíku (Archibald et al. 2017). Pak by nezbývalo než zařadit příslušné druhy pelomyxy mezi améboflageláty. Zároveň však pelomyxy zřejmě nepoužívají bičíky ani k pohybu, ani výživě, takže jde o améboidní bičíkovce spíše jen v závorce. Zástupci příbuzného rodu *Mastigella* (Pelomyxidae) však améboidními bičíkovci rozhodně jsou. Tvoří améboidní buňky s jedním často dlouhým předním bičíkem a konem neasociovaným s jádrem (Zadrobílková et al. 2015). Ovšem i zde jsou doloženy bezbičíkaté buňky, např. u *Mastigella erinacea* (Zadrobílková et al. 2015), které nám podobně jako u mastigaméb znesnadňují rozhodování, kam mastigelly zařadit.



Obr. 3. *Rhizomastix libera* podle Zadrobílková et al. 2016.

Zástupci rodu *Rhizomastix* (Rhizomastixidae) mají obvykle jeden přední bičík, který není asociován s konem, ale mají přeměněnou strukturou zvanou rhizostyl a protáhlý či měňavkovitý tvar buňky. V případě dosednutí na povrch pak tvoří lobopodie či filopodie. Někteří autoři je označují spíše za améboflageláty, ale může to být dáno i neustálenou terminologií (Zadrobílková et al. 2016; Archibald et al. 2017). Buňky se v protáhlé formě pohybují zejména pomocí bičíku, podobně jako mastigaméby, takže by je šlo chápat i jako prostého bičíkovce. Nicméně naše rozdělení bere jako améboidního bičíkovce i takové formy, které se sice pohybují pomocí bičíku, ale zároveň tvoří pseudopodie. Druhy jako *Rhizomastix bicoronata*, *R. varia*, *R. vacuolata* nebo *R. libera* tyto podmínky splňují (Zadrobílková et al. 2016). Z tohoto pohledu jsou pak pro nás dvě formy jen jedním více či méně améboidním bičíkovcem. Kromě jednobičíkatých druhů je známý i dvoubičíkatý *Rhizomastix biflagellata*, endobiont z trávicího traktu žab (Čepička 2011). Mimo zmíněné skupiny můžeme dále jmenovat rody archaméb *incertae sedis Mastigina* a *Tricholimax*.

Vedle archaméb je v amébozoích ještě zástupce varioseí. *Multicilia marina* je améboidní, morfologicky velmi variabilní organismus typicky se vyskytující v kultuře s 20–30 bičíky, oválného tvaru a o velikosti 20–40 µm. Objevoval se však v kultuře i se 2–4 bičíky, případně se 100–200 bičíky a v různých velikostech někdy dokonce větvcích se buněk (Mikrjukov et al. 1998; Nikolajev 2006). Na rozdíl od mastigaméb bičíky nejsou asociovány s konem. Bazální tělíska jsou ovšem obkroužena jakýmsi mikrotubulárním pouzdrém a tato pouzdra jsou dále mikrotubuly propojena mezi sebou. (Mikrjukov et al. 1998). Podle autorů jsou zástupci tohoto rodu eukryovorní a schopní lovit jiné améby pomocí lobopodií (Mikrjukov et al. 1998).

Obazoa

V superříši Obazoa zahrnující Opisthokonta, Breviatea a Apusozoa najdeme řadu relevantních zástupců améboidních bičíkovců. My se budeme věnovat zejména skupinám Breviatea a Apusozoa, v několika případech i skupině Opisthokonta. Převážnou část opisthokont, zejména Fungi a Metazoa, však necháme stranou, jak jsme předeslali výše, ačkoli bychom zde našli relevantní organismy. Těmto skupinám se věnují jiné disciplíny.

Breviatea

Breviatea nesou svůj název podle améboidního bičíkovce *Breviata anathema*. Společně se skupinou Apusomonadea jsou blízkými skupinami opisthokont v superříši Obazoa. Typickou morfologií breviálních organismů je drobný pyriformní améboidní bičíkovec s jedním předním bičíkem, ale dvěma bazálními tělíska tvořící tenké filopodie a volně žijící v anoxickém či mikrooxickém prostředí

(Brown et al. 2013; Heiss et al. 2013). Povrchním pohledem může připomínat archaméby, o kterých již byla řeč, původní název druhu *Breviata anathema* byl také *Mastigamoeba invertens* (Walker et al. 2006). Bičík breviát je specifický tím, že mu chybí vnější dyneinová raménka (Heiss et al. 2013), stejně jako je tomu u archaméb (viz výše). Bičík není asociován s mikrotubulárním košem. Dalším organismem, který představuje obdobný fenotyp jako *Breviata*, je rod *Subulatomonas* se zatím jediným známým zástupcem *Subulatomonas tetraspora* (Katz et al. 2011). Druhý fenotyp v rámci breviát představují druhy *Lenisia limosa* a *Pygsuia biforma*. Jak naznačuje název druhého z nich, někteří autoři u nich mluví o dvou formách, glidující, améboidně přichycené k substrátu, a plovoucí, využívající dva bičíky, přední a zpětný (Brown et al. 2013; Hamann et al. 2016). U druhu *Lenisia limosa* je zpětný bičík až třikrát delší než přední a oba jsou využívány při plavání. Při dosednutí na substrát se ovšem zpětný bičík ovine kolem buňky, ta se protáhne a podle autorů klouže po tomto bičíku. Přední bičík zůstává volný a slouží k zachytávání bakterií. Z popisu autorů to tedy nevypadá, že by se zpětný bičík prodlužoval při přechodu do plovoucí formy, ale pouze se uvolní a není v kontaktu s povrchem buňky, jako je tomu u formy přisedlé (Hamann et al. 2016). Trochu jinak vidí situaci autoři popisující obdobný jev u druhu *Pygsuia biforma* (Brown et al. 2013). Podle nich má přisedlá buňka krátký a plovoucí buňka dlouhý zpětný bičík (Brown et al. 2013). Dá se očekávat, že uváděný rozdíl mezi krátkým a dlouhým bičíkem jednotlivých forem je spíše nedostatkem pozorování, než že by zde skutečně docházelo k prodlužování a zkracování. Stejně jako dva předchozí zmíněné druhy, tvoří i *Lenisia* a *Pygsuia* tenké filopodie (Brown et al. 2013; Hamann et al. 2016). Protáhlý tvar při pohybu po povrchu a tvar a umístění filopodií jsou diagnostickými znaky, díky nimž lze breviáty odlišit od archaméb a cerkozy. U všech těchto tří skupin bychom mohli mluvit o plovoucích formách kvůli odlišnému chování volně v médiu a na povrchu, jako je změna tvaru a tvorba, resp. nevytváření pseudopodií. Nicméně pro potřeby této práce nebudeme tyto dvě tzv. formy chápat jako dva různé fenotypy, a řadit je tudíž mezi améboflageláty, protože u nich nedochází ani k *de novo* tvorbě bičíků, ani nejspíš k zásadní přestavbě cytoskeletu.

Apusozoa

Skupina Apusozoa je blízce příbuzná breviátům a opisthkontům. Najdeme améboidní bičíkovce blížící se fenotypem breviátům s předním a zadním bičíkem, jako je *Thecamonas filosa* (syn. *Amastigomonas filosa*) (Larsen & Patterson 1990, Brown et al. 2013). Potom druhy jako *Thecamonas trahens* se dvěma bičíky předním a zpětným, po kterém kloužou. Buňky mají v apikální části rukávovitý útvar, označovaný jako proboscis, kterým prochází přední bičík (Cavalier-Smith & Chao 2010; Heiss et al. 2013; Archibald et al. 2017). Vedle toho dokážou tvořit pseudopodie (lobopodie, filopodie i zadní projekce), případně se může přední a zadní část buňky rozestoupit a ponechat jen

velmi tenký krček (Cavalier-Smith & Chao 2010, Archibald et al. 2017). Druh *Thecamonas trahens* je navíc zajímavý tím, že jeho genom kóduje kompletní integrinovou výbavu pro mezibuněčnou adhezi známou od metazoi (Archibald et al. 2017). Pseudopodie dokážou tvořit také další druhy apusomonád (Archibald et al. 2017). Jedním z nich je například *Podomonas magna* s hákovitě zahnutým předním bičíkem a krom řečeného schopná tvořit i lamelipodie (Cavalier-Smith & Chao 2010).

Uvedené druhy dokáží být poměrně hodně améboidní, takže se dá předpokládat, že jejich pseudopodie mají na jejich pohyb alespoň takový vliv, jako je tomu u breviát nebo cerkomonád, a tudíž je můžeme bez problémů brát jako améboidní bičíkovce.

Opisthokonta

Poslední případ domnělého améboidního bičíkovce náležejícího do obazoi je rod *Ministeria* (Adl et al. 2012). Z literatury, kterou uvádějí, však námi sledované charakteristiky nijak nevyplývají (Patterson et al. 1993; Tong et al. 1997). Oba známé druhy jsou v dotyčných člancích popisovány obdobně, a to jako malé kulovité buňky s více radiálními poměrně tuhými výstupky a případně tenčí stopkou (Patterson et al. 1993; Tong et al. 1997). Nicméně někteří autoři se domnívají, že by filopodie, či jak v tomto případě nazveme štíhlé a podlouhlé výstupky buňky, mohly být homologické s mikrovilli choanoflagelátů a dodávají, že stopka schopná vibrací u druhu *Ministeria vibrans* by mohla být degenerovaným bičíkem (Cavalier-Smith & Chao 2003a). Následná studie zabývající se opisthokontními organismy, jejich příbuzností a enzymatickou a proteinovou výbavou při analýze transkriptomu zjistila, že u druhu *Ministeria vibrans* jsou přítomné všechny potřebné nástroje pro tvorbu bičíku (Torruella et al. 2015). Ten ovšem neodhalili v podobě stopky, nýbrž jako velmi redukovanou organelu pozorovatelnou jen s pomocí elektronové mikroskopie (Torruella et al. 2015). Ministerii bychom tak skutečně mohli s jistou licencí zahrnout mezi améboidní bičíkovce s dodatkem, že ačkoli bičík má, nepoužívá ho k pohybu. Nicméně se tu zároveň odhaluje omezení našeho morfologického přístupu a napovídá to, že teprve genomické a transkriptomické přístupy budou moci odhalit spleť vztahů améboidních a bičíkatých organismů, která nemusí být na morfologické úrovni vždy pozorovatelné.

CRuMs

Améboidní bičíkovci se nachází dokonce i v nově ustavené říši CRuMs (prozatimní zkratka za (Colloidietyonidae, Rigiifilida, *Mantamonas*) ležící podle fylogenetické analýzy v blízkosti amoebozoí a obazoi (Brown et al. 2018). Druh *Mantamonas plastica* má tenký přední a dlouhý zadní bičík, po

kterém klouže. Buňka má tvar dopředu orientovaného oblouku, přičemž jeho konec je na levé straně delší. Z obou konců je schopna tvořit pseudopodie a k příjmu potravy používá lobopodie (Glücksman et al. 2011). I ve skupině Collodictyonidae najdeme améboidní bičíkovce, např. *Collodictyon triciliatum*. Je to bičíkovec pyriformního nebo srdcovitého tvaru se čtyřmi stejně dlouhými předními bičíky, který schopen tvořit filopodie z ventrální rýhy patrně sloužící jen k získávání potravy (Klaveness 1995; Zhao et al. 2012).

Sar

Rhizaria

V rámci skupiny Rhizaria (Sar) najdeme nejvíce zástupců améboidních bičíkovců ve skupině Cercozoa. Cercozoa jsou nejvíce diverzifikovanou skupinou améboidních organismů vůbec a patří sem řada morfologicky odlišných linií. To se ostatně odrazí i v rozsahu výčtu zástupců z této skupiny. Zaměříme se na skupiny Cercomonadida, Glissmonadida, Thecofilosea, Thaumatomonadida a Variglissida.

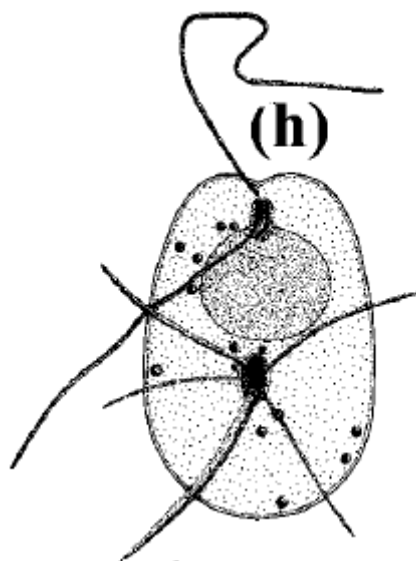
Nejběžnější typ améboidního bičíkovce mezi cercozoí a potažmo rhizárii představují členové skupiny Cercomonadida. Jde o jednu z nejpočetněji zastoupených skupin v půdě jak abundancí, tak diverzitou (Flues et al. 2018). Diverzita cerkomonád se očekává ve stovkách druhů (Bass et al. 2009). Cerkomonády mají při pohybu po povrchu často protáhlý tvar buňky, přičemž posteriorní část obvykle adheruje ke zpětnému bičíku, po kterém buňka klouže a vytváří tak jakýsi „cytoplasmatický ocas“ (Karpov et al. 2006; Brabender et al. 2012; Cavalier-Smith & Karpov 2012; Flues et al. 2018). Dokážou být ovšem také výrazně améboidní a různé druhy jsou schopny vytvářet různé druhy pseudopodií od lamelárních (např. *Cercomonas jendrali* nebo *Eocercomonas perecta*) po větvící se filopodie (např. *E. exploratori* nebo *E. ramosa*) (Karpov et al. 2006; Brabender et al. 2012). U druhu *Filomonas radita* se vyskytují tenké radiální filopodie připomínající povrchně axopodie slunivek (Cavalier-Smith & Karpov 2012). Vzhledem k variabilitě morfotypů a množství forem pseudopodií, které umí jednotlivé druhy tvořit, což přehledně na několika druzích ukazují Brabender et al. (2012), není vždy snadné jednotlivé druhy morfologicky rozlišit. Při delší kultivaci a opakovaném ověřování v řádu několika měsíců se buňky chovají velmi odlišně (ve smyslu pohybu, tvorby pseudopodií apod.) ve srovnání s rannou kulturou (Bass et al. 2009). Tento jev je znám i u různých dalších protistů při jejich dlouhodobé kultivaci (Pánek et al. 2014; Gruber et al. 2017; Tábořský et al. 2017) a my se k němu vrátíme v případě trichomonád. Obdobný fenotyp jako Cercomonadida mají i zástupci sesterské skupiny Paracercomonadida. Jsou však obvykle menší než cerkomonády a liší se i stavbou mikrotubulárních kořenů (Cavalier-Smith & Karpov 2012). Patří sem druhy jako *Metabolomonas insania* měnící rychle tvar a typ pseudopodií (dokonce produkuje retikulopodia) a tvořící podle

pozorování autorů i bičíkatá plasmodia (Brabender et al. 2012). Zvláštností druhu *Nucleocercomonas praelonga* je zase neschopnost klouzání po bičíku, což je jinak typická vlastnost obou skupin „cerkomonád“ (Brabender et al. 2012). Další relevantní rody jsou *Brevimastigomonas* nebo *Paracercomonas*. Organismy patřící do skupin Cercomonadida a Paracercomonadida tvoří společně s breviáty a některými archamébami na první pohled snadno zaměnitelné morfotypy, zejména pokud pomineme počet bičíků.

Vedle zmíněných skupin existují v rámci rhizárií ještě organismy, které bychom mohli chápat jako améboidní bičíkovce širším slova smyslu. Není u nich doloženo, že by se pomocí pseudopodií pohybovali. Na druhou stranu výrazné pseudopodie tvoří, a proto se domníváme, že relevantní je uvést, byť třeba jako hraniční formu améboidního bičíkovce.

Améboidní znaky nacházíme u některých bičíkovců skupiny Glissomonadida (Howe et al. 2009, 2011; Adl et al. 2019). Zatím asi jediným známým zástupcem schopným tvořit pseudopodie po celém povrchu buňky je *Mollimonas lacrima*, améboidní bičíkovec kapkovitého tvaru, s kratším předním a delším zpětným bičíkem, po kterém klouže (Howe et al. 2011). Podobně jako například cercomonády vytváří některé další druhy zadní projekce, adherující pseudopodie až 4krát delší než buňka *Neoheteromita cuadratti* a *Flectomonas lenta* (Howe et al. 2009). Podle autorů by tyto pseudopodie měly sloužit primárně k chytání bakterií a výživě (Howe et al. 2009).

Od předchozích značně odlišnou skupinou v rámci cerkooz jsou Thecofilosea. Ačkoli její zástupci nejsou obvykle označováni jako améboidní bičíkovci, vyznačují se oběma podstatnými znaky. Mají bičíky a zároveň tvoří pseudopodie, i když je nejspíš používají jen získávání potravy (Hoppenrath & Leander 2006). Spadají sem zejména dvě skupiny améboidních bičíkovců odlišného typu, než jsou „cerkmonády“. Jde o organismy s robustní extracelulární zploštělou oválnou thékou organického původu se dvěma subapikálně umístěnými bičíky, předním a zpětným, a pseudopodiemi (zejména filopodiemi či rhizopodiemi) omezenými pouze na otvory v théce (Larsen & Patterson 1990; Hoppenrath & Leander 2006; Chantangsi & Leander 2010; Adl 2019). Konkrétně jde o zástupce skupiny Protaspidae (Cryomonadida), jako jsou druhy *Protaspis grandis* (Hoppenrath & Leander 2006) nebo *P. tegere* (Larsen & Patterson 1990). A skupiny Ventricleftida, kam patří například *Ventrifissura foliiformis* a *Verrucomonas longifila* (Chantangsi & Leander 2010). Přestože se Protaspidae i Ventricleftida od cercomonád značně liší, k pohybu využívají klouzání po delším zpětném bičíku podobně jako cercomonády (Hoppenrath & Leander 2006; Chantangsi & Leander 2010). Na rozdíl od *Protaspis*, u níž se filopodie tvoří ve ventrální rýze porházející podélně spodní stranou buňky (Hoppenrath & Leander 2006; Larsen & Patterson 1990), u druhů jako *Ventrifissura foliiformis* a *Verrucomonas longifila* se větvené filopodie se vysouvají jen z otvoru v zadní části buňky (Chantangsi & Leander 2010).



Obr. 4. *Verrucomonas longifila* podle Chantangsi & Leander 2010.

Podobný fenotyp sdílí ještě jedna skupina v rámci rhizárií, a to skupina Thaumatomonadida a rod *Esquamula* (Adl et al. 2019). U skupiny Thaumatomonadidae se opět jedná o dvoubičíkaté buňky, tentokrát s povrchem tvořeným křemičitými šupinami a se pseudopodiemi (Howe et al. 2011; Adl et al. 2019). Patří sem *Thaumatomonas oxoniensis* s kratičkým předním a dlouhým zpětným bičíkem. Přisedlá velmi zploštělá buňka zpod sebe vysouvá pseudopodie všemi směry, která po osvětlení (fotosenzitivita) zatahuje a začíná klouzat po dlouhém zpětném bičíku (Cavalier-Smith & Chao 2010; Howe et al. 2011). Dalším popsáním améboidním bičíkovcem s obdobným fenotypem je *Thaumatomonas coloniensis* (Wylezich et al. 2007). Vedle této skupiny stojící rod *Esquamula* nemá schránku ani šupiny a pohybuje se klouzáním po dlouhém zpětném bičíku s občasnou tvorbou pseudopodií (Adl et al. 2019). Konkrétně druh *E. lacrimiformis* má vejčitý tvar, krátký přední a dlouhý zpětný bičík, po kterém klouže, a tvoří dlouhé lobopodie i filopodie z ventrální rýhy nebo zadní části buňky (Shiratori et al. 2012). Autoři se současně nedomnívají, že by se buňka při tvorbě pseudopodií pohybovala (Shiratori et al. 2012).

Poslední skupinu rhizárií, kterou uvedeme, jsou Variglissida (Yabuki & Iashida 2018; Adl et al. 2019), kde se nachází opět zcela právoplatný améboidní bičíkovec. Tento klád podporují výsledky studie autorů Yabuki & Iashida (2018). Jeho pozice zatím není jasná, zahrnuje však organismy se dvěma (*Nudifila*) nebo čtyřmi (*Quadrícilia*) nesterajně dlouhými bičíky a pseudopodiemi. *Quadrícilia rotundata* je bičíkovec se čtyřmi bičíky tvořící tenké větvičky se pseudopodie ze zadní části buňky (Yabuki & Iashida 2018), k čemu slouží, nevíme. *Nudifila producta* má kulovitou buňku, která produkuje větvičky se pseudopodie nebo síťovité retikulopodie kolem celé buňky (Howe et al. 2011;

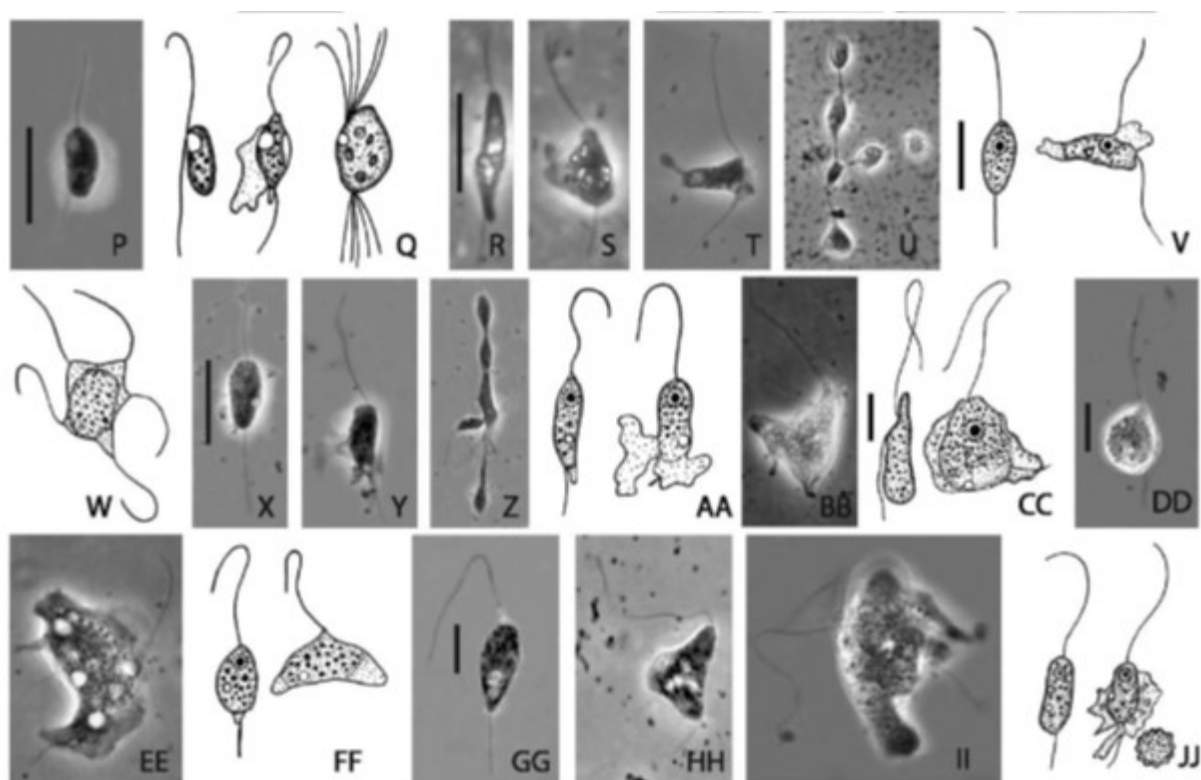
Yabuki & Iashida 2018). Vedle toho je schopná tvořit posteriorní projekce a lobopodie a při pohybu neklouže po bičíku, ale sune se po substrátu (Howe et al. 2011). *Nudifila* se tak zdá být exemplárním améboidním bičíkovcem.

Nyní se dostáváme k organismům, jejichž fenotyp a také jeho popis dobře ilustruje obtíže naší snahy oddělit striktně améboidní bičíkovce od améboflagelátů. Podle současné klasifikace spadají do skupiny Massisteridae (Granofilosea, Cercozoa) a jde o rody *Massisteria* a *Minimassisteria*. *Massisteria* je organismus s velmi drobnými buňkami. Při pohybu ve vodním sloupci používá dva nestejně dlouhé bičíky a při dosednutí na substrát tvoří paprskovitá, někdy větvcí se filopodie (Mylnikov et al. 2015). Mylnikov et al. (2015) ovšem tento fenotyp či tyto fenotypy popisují jako dvě fáze životního cyklu, améboidní (nepohyblivé nebo jen velmi málo pohyblivé) a aktivně plovoucího bičíkovce. Jinde se uvádí, že bičíkovec je schopen také klouzat po bičíku (Patterson & Fenchel 1990). Pro pojetí autorů Mylnikov et al. (2015) hovoří pozorování, že bičíkovec má delší bičíky než améboidní forma, ale to může být podle našeho názoru snadno způsobeno chybou pozorování, zvláště pokud u plovoucích buněk nebyla analyzována ultrastruktura pro jejich nízkou abundanci v kultuře. Podobný názor sdílí i Patterson & Fenchel (1990) v článku prezentujícím první popsany druh *Massisteria marina*. Je pochopitelně pouze věcí interpretace a stanovení si v zásadě libovolných kritérií difference mezi stádii, zda budeme tyto organismy chápat jako améboidní bičíkovce, nebo améboflageláty.

Druhou těžko zařaditelnou skupinou cercozoí jsou Pansomonadidae s rody *Aurigomonas* a *Agitata*. Dobře popsán je eukaryotický druh *Aurigomonas solis*, který tvoří radiální haptopodie podobně jako slunivky, ovšem bez mikrotubulů (Vickerman et al. 2005), zároveň je heterokontním bičíkovcem s dlouhým zpětným bičíkem a krátkým předním bičíkem, oba s mastigonémami. Zároveň je schopen vytvářet lobopodie. Je ovšem schopen přejít ještě do další měňavkovité podoby s lamelipodiemi, přičemž bičíky sice neztrácí, ale přestává jimi hýbat (Vickerman et al. 2005). Je proto těžko rozhodnout, zda *Aurigomonas* vlastně nezařadit spíše mezi améboflageláty. Detailní popis Vickermana et al. (2005) však hovoří pouze o tom, že buňka využívá pseudopodie k fagocytóze příp. myzocytóze, nikoli však k pohybu. Z toho důvodu ji můžeme považovat za améboidního bičíkovce, protože v obou formách jsou pro fenotyp améboidní vlastnosti stěžejní. Jedná se tedy zřejmě o zatím jedinou měňavku se dvěma bičíky s mastigonémami. Rod *Agitata* podle popisu a fotodokumentace mnohem víc připomíná typické „cerkomonády“ (Howe et al. 2011).

Rodem *incaerte sedis*, který je také někdy popisován jako améboflagelát v tom smyslu, že nabývá dvou podob, měňavky a bičíkovce, je rod *Pseudospora* (Swale 1969). Ačkoli je její fenotyp podle popisu ve Swale (1969) docela blízký cercomonádám, jejichž fenotyp chápeme jako jeden. Buňka má dva nestejně dlouhé přední bičíky a na substrátu dokáže tvořit pseudopodie, případně filopodie. Nicméně si bičíky zřejmě ponechává i v měňavkovité formě (Swale 1969). Zda se jako

měňavka pohybuje, nebo jen loví potravu, nevíme. Sám Swale (1969) píše, že podobná morfologická srovnávání protist jsou ošemetná věc a jsou vždy vedena pozorovatelovým omezením se jen na několik znaků z celého živého organismu. Pseudosporu proto řadíme na rozhraní kapitol, abychom podtrhli i její nejasnou pozici jako případného améboflageláta.



Obr. 5. Fotografie a kresby různých druhů cercomonád podle Karpov et al. 2006. Měřítko 10 μ m.

Diverzita améboflagelátů

Jak již bylo řečeno, améboflageláty rozumíme protistní organismy, které jsou schopny nabývat jak podoby bičíkovce, často zcela bez améboidních znaků, tak měňavky, často úplně bez bičíků nebo s bičíky nepoužívanými k pohybu. V případě améboflagelátů můžeme z hlediska jejich diverzity mluvit o hlavních a jednoznačných dokladech ve dvou říších. První jsou Amoebozoa, kde jde zejména o intenzivně zkoumané myxogastriidní hlenky a celou skupinu Eumycetozoa, kam patří, a druhou jsou Excavata, kde se jedná téměř výhradně o skupinu Heterolobosea a několik zástupců parabasalí. Vedle toho se však objevují i případy ze superříše Sar, konkrétně ze skupin Rhizaria a Stramenopiles, a skupina *incertae sedis* Anaeramoebidae. Je vcelku obvyklé, že stadium bičíkovce a měňavky jsou součástí komplexnějšího životního cyklu. Těmi bývají i bičíkaté gamety u různých améboidních organismů. My se případům, kdy jde prokazatelně o bičíkaté gamety věnovat nebudeme, protože jde z našeho pohledu o jinou problematiku.

Anaeramoebidae (Eukaryota *incertae sedis*)

Zajímavé améboflageláty najdeme v teprve nedávno objevené skupině Anaeramoebidae s nejistým umístěním mezi eukaryoty. Její zástupci jsou améby bez bičíků při pohybu obvykle vějířovitého tvaru s širokou hyalinní zónou a posteriorními projekcemi (můžeme také říci filopodiemi), které jsou schopny transformace do bičíkovců se dvěma nebo čtyřmi stejně dlouhými subapikálně umístěnými bičíky (Pánek et al. 2017). Konkrétně jsou bičíkaté fenotypy doložené u druhů *Anaeramoeba ignava* oválného tvaru a u druhu *A. gargantua* pyriformního tvaru. Autoři uvádějí, že bičíkaté fenotypy z kultur postupně vymizely a nikdy se v nich nenacházely v hojném počtu. Rychle se pohybující bičíkovci se zdají jako zjevně odlišné „stadium“ anaeramoeby, i tak ale autoři uvádí, že pozorovali (dokládají to snímkem) vznik pseudopodie u bičíkovce přisednuvšího na povrch (Táborský et al. 2017). Zda šlo o zachycení procesu transformace, nebo zda je i bičíkovec schopen kdykoli tvořit pseudopodie, zatím nevíme.

Amoebozoa

Podle poslední velké fylogenomické studie patří všichni zástupci bičíkatých amoebozoí do skupiny Evosea (Kang et al. 2017). Konkrétně jde o již zmíněnou skupinu Archamoebae a dvě další relevantní skupiny, Eumycetozoa a Variosea (Kang et al. 2017). První velkou skupinou superskupiny Amoebozoa, kde v rámci životního cyklu přechází bičíkaté stadium v amébu, jsou Eumycetozoa, a to

zejména Myxogastria a Protosporangiida. U obou skupin je popsán komplexní životní cyklus a alespoň u některých zástupců pohlavní rozmnožování (Kang et al. 2017). Tyto organismy jsou běžně označovány obecně jako hlenky, protože tvoří slizovitá plasmodia.

Myxogastria neboli myxogastriidní hlenky jsou velmi diverzifikovanou skupinou hlenek s množstvím druhů. Obvykle tvoří makroskopická plasmodia a makroskopické sporokarpy různého typu od jednotlivých sporangií až po aethalia, kdy je sporokarpem celé plasmodium, nebo plasmidokarpy (Adl. et al. 2019). Ze spory se vyvíjí bičíkovci se dvěma bičíky, kteří jsou schopni transformace v jednojadernou amébu a naopak, jde tedy o améboflagelátní transformaci. Známé rody jsou např. *Physarum*, *Echinostelium*, *Echinostelipsis* nebo *Didymium*. Z této skupiny je asi nejzkoumanějším a všestranně modelovým organismem *Physarum polycephalum*. Jeho bičíkovec má výrazně delší přední a kratší špatně viditelný zpětný bičík. Během transformace je schopen adherovat zadní část k povrchu (Uyeda & Furuya 1985; Glyn & Gull 1990), ale nepovažujeme to za dostatečně silný znak, abychom ho zařadili k améboidním bičíkovcům. *P. polycephalum* je, podobně jako *Nageleria gruberi* (Heterolobosea), modelovým organismem pro améboflagelátní transformaci. Detailně tento proces popisují třeba Uyeda & Furuya (1985) nebo Glyn & Gull (1990). Jedním ze studovaných jevů je migrace jádra během transformace. V měňavkovité formě se nachází jádro s asociovaným centrosomem uprostřed buňky, ale u bičíkovce se posune do přední části buňky, odkud pak vyrůstají bičíky a celý cytoskelet (Uyeda & Furuya 1985; Ohta et al. 1991). Další studie dokládá, že k transformaci dochází pouze v interfázi, a nikoli v M fázi buněčného cyklu, protože tehdy je centrosom využit k dělení buňky (Ohta et al. 1993). K indukci transformace u *P. polycephalum* na bičíkovce stačí snížení množství živin v prostředí (např. destilovaná voda). Při opětovném navrácení do živného média vznikají améby (Glyn & Gull 1990).

Další skupinou hlenek v eumycetozoích jsou Protosporangiida. Mají mikroskopické sporokarpy většinou s jednou až čtyřmi sporami. Ze spor se stanou améboidní bičíkovci se dvěma bičíky jako v předchozím případě a ty pak tvoří buď jedno, či více jaderné améboidní formy, ze kterých se pak stane jeden či více sporokarpů (Archibald et al. 2017; Adl et al. 2019). Jsou známé tři rody. U zástupců rodů *Protosporangium* a *Clastostelium* se stadium bezbičíkaté améby či plasmodia přetváří v sporokarp se dvěma nebo čtyřmi sporami (Archibald et al. 2017; Adl et al. 2019). Efemérní améboidní bičíkovec přecházející v amébu je doložen třeba u druhu *Protosporangium articulatum* (Spiegel & Feldman 1985).

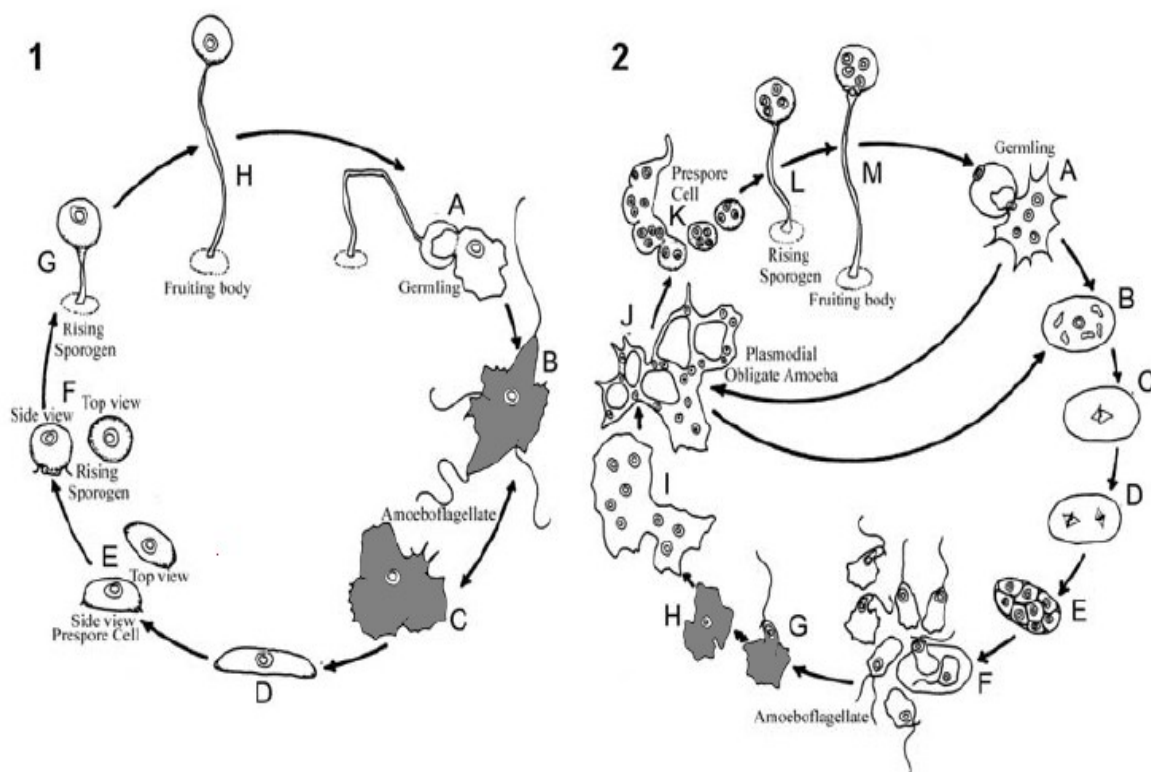
U rodu *Ceratiomyxa* se tvoří mnohoaderné plasmodium a z něj pak stopkovitý sporokarp s jedinou obvykle čtyřjadernou sporou, zároveň má v životním cyklu stadia měňavky i bičíkovce (Archibald et al. 2017; Adl et al. 2019). Například dobře popsáný druh *C. fruticulosa* má stadium améboidního bičíkovce se dvěma bičíky, předním a zpětným, a améboidní zejména zadní částí buňky (Nelson & Scheetz 1975; Scheetz et al. 1980; Spiegel 1981). Zpětný bičík často adheruje k buňce,

proto se jeho existence potvrdila až z ultrastrukturních studií (Nelson & Scheetz 1975; Scheetz et al. 1980). *C. fruticulosa* má v životním cyklu tu zvláštnost, že améboidní bičíkovci se tvoří ze specifické „vláknité“ buněčné struktury po osmicích a nejprve se tvoří přední bičík (ale bazální tělíska jsou už přítomna obě) a až následně zpětný, nejvýše do 4 hodin po oddělení bičíkovce (Scheetz et al. 1980).

Další organismy, kterými se budeme zabývat, patří už do skupiny Variosea, nicméně kvůli podobnosti životních cyklů, tvorbě sporokarpů a plasmodií se jim také říká hlenky. U druhu *Ceratiomyxella tahitiensis* (Fractovitellida) byl popsán životní cyklus, v němž se améboidní bičíkovec encystuje z cysty vytvořené plasmodiální měňavkou (Spiegel et al. 1991; Archibald et al. 2017). Améboidní bičíkovec dokáže v této formě setrvávat dlouho dobu, a dokonce se dělit (Spiegel & Feldman 1991). Bylo pozorováno, že améboidní bičíkovci se transformují ve vodě z bezbičíkatých améb (Olive & Stoianovitch 1971). Jde opět o situaci, kde je améboidní bičíkovec součástí komplexního životního cyklu améboflageláta.

U dalšího zástupce varioseí, druhu *Cavostelium apophysatum* (Cavosteliida), najdeme plodničku tvořenu z plasmodia. Z uvolněné spory se tvoří améboidní bičíkovec s různým počtem bičíků a variabilní morfologií, schopný mnohačetného mitotického dělení (Spiegel & Feldman 1991). Na agaru se podle pozorování buňky pohybují pomocí pseudopodií a v tekutém médiu mají sférický tvar, o pohybu se autoři již nezmiňují (Spiegel & Feldman 1991). I zde je améboidní bičíkovec součástí komplexnějšího životního cyklu s plasmodiální amébou, proto počítáme *C. apophysatum* mezi améboflageláty.

Mezi Variosea by patřil ještě druh *Planoprotostelium aurantium*, příbuzný rodu *Protostelium*, s ne úplně jasnou pozicí v rámci skupiny. Adl et al. (2019) ho umisťují do zvláštní skupiny Protosteliida, kterou ovšem nepoužívá klasifikace podle Kanga et al. (2017). V tekutém médiu vytváří jedno nebo vícebičíkatá stadia, jinak také bezbičíkaté měňavky a spory (Shadwick et al. 2018). Bylo pozorováno, že améboidní bičíkovec planoprotostelia má obvykle protáhlý tvar, případně je schopen tvořit široké lamelipodie a má jeden až devět bičíků neasociovaných s jádrem, nejčastěji dva nebo tři s tím, že se často nachází bipolárně, na protilehlých pólech buňky (Spiegel 1982). Améboidní bičíkovce tvoří *P. aurantium* ve vodním prostředí a Spiegel (1982) uvádí, že při vysušení substrátu dojde k transformaci do améby bez bičíků.



Obr. 6. 1. Životní cyklus *Planoprotostelium aurantium*. 2. Životní cyklus *Ceratiomyxella tahitiensis*. Améboflagelátní stadia jsou zvýrazněna šedě. Podle F. W. Spiegla in Frey 2012. Upraveno.

Mimo hlenky najdeme ve varioseích, ještě další zástupce améboflagelátů, jsou jimi například Phalansteriida. Z nich se v literatuře objevují zejména dva druhy, *Phalansterium filusum* a *P. solitarium*, které vykazují jen znaky bičíkovce. *Phalansterium filusum* nabývá dvou fenotypů, bičíkovce s jedním velmi dlouhým bičíkem až pětkrát delším než průměr buňky a bezbičíkaté améby (Smirnov et al. 2011). Bičíkovec je schopen se přichytit krátkými pseudopodiemi na povrchu, ale celková transformace v amébu trvá podle pozorování řádově hodiny, autoři pozorování uvádějí zhruba dvě a půl hodiny od přeočkování kultury plné bičíkovců a získání kultury jen s amébami (Smirnov et al. 2011). U druhu *P. solitarium* není doložená přeměna v amébu bez bičíku a pouze sporadické krátké pseudopodie (Smirnov et al. 2011). Velmi formálně vzato bychom tedy tento druh mohli zařadit k améboidním bičíkovcům, nicméně neznáme účel, za jakým pseudopodie tvoří a zda je využívá k pohybu. Zmiňujeme ho však zde, protože tento případ představuje možnou ztrátu schopnosti tvořit měňavkovitou formu a zjednodušení životního cyklu.

Rod s nejednoznačným postavením *Angulamoeba* není Kangem et al. (2017) zahrnuta do poslední fylogeneze Amoebozoí, ale je uváděna Adlem et al. (2019). Může tvořit často se větvcí amébu s tenkými někdy se větvcími pseudopodiemi až filopodiemi (Berney et al. 2015). Stádium améby má tak pomalý pohyb, že nejde dobře pozorovat ve světelném mikroskopu (Berney et al.

2015). Podle pozorování autorů se bičíkatá stadia objevují u druhu *A. microcystivorans*, a to zejména hned po inokulaci, a mívají nejčastěji jeden, ale až tři bičíky a oválný nebo sférický tvar buňky. K transformaci do bičíkovce a stejně zpět do améby pak dochází velmi rychle v řádu jednotek minut (Berney et al. 2015).

Nakonec se dostáváme ještě ke třem druhům ze skupiny Archamoebae, které jsme se již věnovali u améboidních bičíkovců. Když pomineme sledovaný životní cyklus zástupců rodu *Pelomyxa* (Zadrobílková et al. 2015; Archibald et al. 2017), je známa řada druhů rodu *Mastigamoeba*, které podle popisu jejich životního cyklu lze zařadit mezi améboflageláty, *Mastigamoeba simplex*, *M. punctachora*, *M. balamuthi*, *M. schizophrenia* a *M. aspera* (Simpson et al. 1997; Bernard et al. 2000; Chystjakova et al. 2012; Pánek et al. 2016; Archibald et al. 2017). Všechny jmenované organismy podle pozorování tvoří krom klasických améboidních bičíkovců a cyst ještě pohyblivá plasmodia, vícejaderné bezbičíkaté měňavkovité formy. (Simpson et al. 1997; Pánek et al. 2016).

Obazoa

V rámci obazoí se nám podařilo dohledat jen jeden věrohodný případ². Úmyslně necháváme stranou houby (Fungi) a houbám příbuzné organismy (např. Aphelida) a samozřejmě také Metazoa, protože jim se věnují speciální disciplíny a objem látky by enormně narostl, jelikož mezi zmíněnými organismy existuje řada linií, pro které jsou bičíkaté i měňavkovité buňky běžné. První relevantní protistní skupinou z Obazoí jsou Ichthyosporea (Holozoa, Opisthokonta), resp. druhy *Dermocystidium paerce* a *D. fennicum* (Pekkarinen et al. 2003). Oba druhy tvoří bičíkaté spory s jedním bičíkem a nefunkční centriolou. Po osídlení hostitele tvoří plasmodia, která zde chápeme jako amébovitou formu (Pekkarinen et al. 2003).

Sar

Stramenopiles

Ve skupině Stramenopiles (Sar) můžeme uvažovat několik organismů, které lze podle jejich popisu zařadit mezi améboflageláty. Těmi jsou Rhizchromulinales (Dictyochophyceae), améboidní organismy zároveň nabývající podoby bičíkovce, nebo, jak uvádí literatura, zoospory (Adl et al. 2019). Zároveň

² Jsou ještě zaznamenána starší pozorování domnělých kolonií choanoflagelátů (Opisthokonta) společně s měňavkovitými buňkami, či kresbou zaznamenaná transformace bičíkovce podobného choanoflagelátovi do měňavky (Saville Kent 1880–1882). Vzhledem k tomu, že za sto let žádná další pozorování tohoto druhu nemáme, domníváme se, že šlo spíše o rozdrčené porifery, a proto tyto případy neuvádíme.

jsou společně s chlorarachniofyty (Rhizaria) jedinými dvěma skupinami améboflagelátů s plastidem, které jsme odhalili. Druh *Rhizochromulina marina* má bičíkatou formu protáhlého vřetenovitého tvaru s jedním předním bičíkem a patrným plastidem. Bičíkovec se může transformovat do bezbičíkaté améby tvořící tenké dlouhé filopodie (Hibberd & Chretiennot-Dinet 1979).

Druhý zástupce je ze skupiny Bicosoecida, *Otto terricolus* (Bugge Harder et al. 2014). Jde o bičíkovce o velikosti pouhých 2–4 μm se dvěma bičíky, předním a zpětným, který je schopen tvořit amébu zcela bez bičíků asi 2–3krát větší, než je bičíkatá forma. Autoři trochu tajemně připisují vedle klasické bičíkaté améboidní formu (se zachovanými bazálními tělísky bičíků a cytostomální rýhou) i druhu *Regin rotiferus* ze stejné skupiny, nicméně nepodávají žádné podrobnosti (Bugge Harder et al. 2014).

Rhizaria

První améboflagelát z Rhizarií (Sar) je příslušník mořských cercozoí, rod *Rhabdamoeba* (Marimonadida), jejímiž formami jsou bezbičíkatá měňavka s vějířovitými pseudopodiemi a bičíkovec se dvěma zpětnými bičíky, po kterých může klouzat (Rogerson et al. 1998).

Další skupinou z cercozoí jsou Viridiraptoridae (Adl et al. 2019). Střídají se u nich stadia bičíkovce se dvěma nestejně dlouhými bičíky a améby, které zůstávají bičíky. Bičíkovci kloužou po zpětném bičíku, který je delší než přední. Obě formy dokážou pronikat přes stěny zelených řas, kterými se živí (Hess & Melkonian 2013). Jsou schopné přecházet z bičíkovce do améby a zpět, životní cykly a ultrastrukturu buněk detailně popisují Hess & Melkonian (2013, 2014) na druzích *Viridiraptor invadens* a *Ociraptor agilis*.

Clathrulnidae jsou slunivkám podobné organismy, tedy améby s radiálními pseudopodiemi někdy s mřížovanými kapsulemi organického původu a někdy se stopkou k přichycení se k podkladu. Na tenkých pseudopodiích (filopodiích) mají kinetocysty. Zároveň však mají doložená jednobičíkatá nebo dvoubičíkatá stadia, která vznikají při binárním dělení améby a po dosednutí na substrát se mění v amébu bez bičíků (Archibald et al. 2017). Známé rody jsou například: *Clathrulina*, *Cienkowskyia*, *Hedriocystis* nebo *Penardiophrys*.

Mezi améboflageláty lze počítat také některé zástupce fotosyntetické linie Chlorarachnea (nebo Chlorarachniophyta; mají sekundární plastid v původní podobě s nukleomorfem). Známý a studovaný je například rod *Bigelowiella*, ačkoli améboidní stadium je známé u druhu *B. longifolia*, a nikoli u modelového organismu *B. natans* (ten však je prý schopen tvořit pseudopodie (Archibald et al. 2017) a mohl by tak být případně řazen mezi améboidní bičíkovce). Životní cyklus má zřejmě tři formy, ne nutně stadia, protože v sebe mohou vzájemně přecházet – plovoucího bičíkovce se dvěma stejně dlouhými bičíky, amébu a kokální buňku (Archibald et al. 2017). Všechny tři formy jsou

doložené u následujících rodů: *Lotharella*, *Partenskyella*, *Cryptochlora*, *Amorphochlora* a *Chlorarachnion* (Archibald et al. 2017).

Poslední tři relevantní skupiny rhizárií už nepatří do cerkzoí, ale do kládu Endomyxa. Jsou jimi Phytomyxea dále se dělící na Plasmodiophorida (*Plasmodiophora*, *Polymyxa* atd.) a Phagomyxida (*Phagomyxa*, *Maullinia*) (Archibald et al. 2017; Adl et al. 2019). Jedná se o organismy s měňavkovitým nebo plasmodiálním stadiem a dvoubičíkatými nebo čtyřbichíkatými heterokontními bičíkovci, někdy vybavenými zvláštním ústrojím k pronikání do jiných buněk. Jsou totiž parazity nebo parazitoidy rostlin a stramenopilů. Známa je zejména *Plasmodiophora brassicae*, která má v životním cyklu dokonce dvě dvoubičíkatá stadia a dvě plasmodiální (Schwelm et al. 2015). Disperzní bičíkatá stadia jsou uváděna i skupiny Gromiida, kterou tvoří améby pohybující se pomocí filopodií a se schránkami z organického materiálu (Cavalier-Smith & Chao 2003b; Adl et al. 2019), může jít ovšem o gamety. Poslední ze tří skupin, Paradiniidae, jsou paraziti mořských koryšů a jako jediní ve skupině Ascetosporea mají dvoubičíkatou formu se dvěma nestejně dlouhými bičíky. V hostiteli tvoří mnohojaderná plasmodia, která bychom mohli přijmout jako améboidní formu, např. *Paradinium poucheti* (Skovgaard & Daugbjerg 2008).

Excavata

Než se v rámci exkavát dostaneme k heteroloboseím, zastavíme se ještě u zajímavého případu trichomonád ze skupiny Parabasalia (Metamonada). Z hlediska rozdělení na améboidní bičíkovce a améboflageláty se jedná o dost těžko zařaditelné organismy. Méně už, pokud připustíme, že bičíkovec a měňavka jsou jen krajní případy určitého kontinua.

Parabasalia jsou povětšinou bičíkovci, často s undulující membránou a parabasálním tělískem (tj. Golgiho aparátem spojeným žíhanými fibrilami s bazálními tělísky). Jde zejména o symbionty, ať už parazity, komenzály nebo mutualisty trávicího traktu živočichů (Archibald et al. 2017). Typickým fenotypem je „trichomonáda“, pyriformní bičíkovec bez cytostomu a s axostylem, trnovitým útvarem tvořícím osten na posteriorním konci buňky (Archibald et al. 2017).

Asi nejznámější trichomonádou je lidský parazit *Trichomonas vaginalis* se čtyřmi předními a jedním zpětným bičíkem tvořícím undulující membránu. Tento bičíkovec bez tzv. exkavátní rýhy je ovšem schopen významným způsobem proměnit svou morfologii. Bylo pozorováno, že k přechodu na měňavkovitou formu dochází při kontaktu s vaginálním epitelem (Gould et al. 2013). U *Histomonas meleagridis* jsou také známy i silně améboidní formy, které jsou indukovány teplotou nad 30 °C a zvláště améboidní jsou při teplotě nad 37 °C. Velice se zploští a tvoří široké pseudopodie. Zachovány u nich však například oproti naeglerii zůstávají vnitřní struktury (parabazální

tělísko, axostyl) i bičíky. Ty se ovšem v danou chvíli nijak nepodílejí na pohybu (Honigberg & Bennet 1971). Gruber et al. (2017) zase uvádí u *Histomonas meleagridis*, že buňky získávají výrazně měňavkovitou podobu po delší kultivaci. *Gigantomonas herculea* zase tvoří obří plasmodia (Brugerolle 2005).³ Kusidan et al. (2013) a Gould et al. (2013) dokonce uvádějí tvorbu plasmodií u *Trichomonas vaginalis*, když pozorovali, že po hodině od nákazy se buňky výrazně zvětšily a staly se vícejadernými.

V rámci říše Excavata i v rámci všech zmíněných a popsaných organismů má skupina Heterolobosea (Discoba), která má zcela výsadní postavení, přestože se k ní dostáváme až na úplný závěr. Dalo by se říct, že jsou to právě druhy jako zástupci rodu *Naegleria*, které podnítily zájem o améboflageláty a vůbec nutnost vzniku samotného pojmu. U heteroloboseí se setkáváme s nejdetailněji popsanou studovanou transformací mezi bičíkovcem a měňavkou. Většina zástupců má životní cyklus zahrnující cystu, amébu a bičíkovce (někdy schopného fagocytózy nebo dělení) (Archibald et al. 2017). Název životní cyklus zde úplně nevystihuje situaci, protože to není cyklus ve stejném smyslu, jak jsme ho mohli vidět například u myxogastriidních hlenek nebo rhizarií s tzv. disperzními stadii. U těchto organismů často neexistuje reverzibilní přeměna z bičíkovce zpět do améby a daná stadia jsou nutná k reprodukci. V případě heteroloboseí pak platí, že améba je centrální formou, ze které se stává buď cysta, nebo bičíkovec (Archibald et al. 2017). Možná tedy lépe říkat, že například *Naegleria* nabývá tří fenotypů, morfotypů či forem. Bičíkovci heteroloboseí mají obvykle ventrální rýhu (modelový rod *Naegleria* ovšem ventrální rýhu nemá), 2 nebo 4 bičíky, výjimečně jinak, třeba *Psalteriomonas lanterna* s 16 bičíky (Broers et al. 1990), *Oramoeba fumarolia* s 2–10 bičíky (De Jonckheere 2011) a *Creneis carolina* s kulovitými buňkami až se 14 bičíky a dalšími zvláštnostmi (Pánek et al. 2014; Archibald et al. 2017). Améby heteroloboseí pak typicky mají eruptivní lobopodie a nejsou v nich přítomna bazální tělíška bičíků. Heterolobosea se dělí do dvou skupin: Pharyngomonada s rodem *Pharyngomonas* s bičíkovci se čtyřmi bičíky velkou ventrální rýhou a cytopharyngem. I u tohoto rodu byla však pozorována améboflagelátní transformace u více druhů, například *Pharyngomonas kirbyi* (Harding et al. 2013; Plotnikov et al. 2015). A Tetramitida se všemi ostatními améboflagelátími rody jako *Naegleria*, *Psalteriomonas*, *Heteramoeba* nebo *Tulamoeba*. Zatímco améby různých druhů jsou si vesměs dost podobné, bičíkovci se mohou značně lišit. *Tulamoeba bucina* je případ heteroloboseálního améboflageláta s bičíkovcem se dvěma bičíky a je halofilní (Kirby et al. 2015). Bičíkovec améboflageláta *Psalteriomonas lanterna* má čtyři jádra, čtyři ventrální rýhy a čtyřikrát čtyři bičíky v čtyřčetné rotační symetrii (Broers et al. 1990). *Creneis carolina* nabývá krom jiných také formy typického améboidního bičíkovce s jedním předním bičíkem (Pánek et

³ Mezi parabasalii je dokonce známý i jeden druh měňavky bez bičíků, lidský parazit *Dientamoeba fragilis* (Archibald et al. 2017).

al. 2014; Archibald et al. 2017). Životní cyklus a améboflagelátní transformace jsou popsány krom rodu *Naegleria* také u druhu *Tetramitus rostratus* (Bunting 1922; Outka & Kluss 1967).

Organismus, na němž se améboflagelátní přeměna už od šedesátých let dvacátého století studuje nejvíce, je však *Naegleria gruberi* (Heterolobosea) ze stejného rodu jako známý lidský patogen *Naegleria fowleri*. U naeglerií byla jako u jednoho z prvních organismů pozorována tvorba bazálního tělíska *de novo* (Fulton & Dingle 1971; Fritz-Laylin & Fulton 2016). Dva kmeny, NEG a NB-1, se následně staly modelovými organismy pro zkoumání tohoto procesu a jsou jimi dodnes. Původně se autoři studií domnívali, že jde v obou případech o druh *Naegleria gruberi*, nicméně díky zjištěným odlišnostem v genomu byl kmen NB-1 uznán jako samostatný druh *N. pringsheimi* (De Jonckheere 2004; Fritz-Laylin & Fulton 2016).

Jak jsme se snažili naznačit při představování jednotlivých skupin organismů, naeglerie představují v určitém smyslu ideální studijní příklad přeměny, kdy se měňavky bez bičíků stává bičíkovcem se dvěma bičíky bez jakýchkoli améboidních znaků. Jde tedy o určitý typ úplné proměny z jednoho fenotypu ve druhý.

Z dosud shromážděných poznatků vyplývá, že *Naegleria* se po většinu svého života nachází buď v podobě améby, nebo cysty. Améba je heterotrof a bakteriovor. Za určitých podmínek se z améby na krátko stává bičíkovec se dvěma bičíky, v současnosti obvykle chápáný jako disperzní stadium, které není schopno se dělit, ani přijímat potravu (Preston & King 2003; Archibald et al. 2017). Fulton 1977) uvádí, že bičíkovec se změní do améby v řádu minut až dní v závislosti na podmínkách. Oproti tomu třeba *Tetramitus* vytváří bičíkovce schopné dalšího dělení i výživy, takže v této formě může stabilně setrvávat. Mimoto, pokud jde o indukci transformace, musí být *Tetramitus* na rozdíl od naeglerie vystaven mikrooxickému prostředí, pro transformaci naeglerii v bičíkovce je podstatná snížená koncentrace živin (Fulton 1970). Obecně se dá říci, že důvody transformace jsou stresové podmínky v koncentraci potravy, iontů nebo změně teploty v prostředí atd. (Archibald et al. 2017).

Eukaryotické bičíky jsou tvořeny mikrotubuly stejně jako mikrotubulární cytoskelet, který bičíkovec naeglerie má. V podobě améby však naeglerie v sobě žádné mikrotubuly neobsahuje, vyjma probíhající mitózy, kdy se vytváří dělicí vřeténko (Walsh 2007). Při transformaci z améby do bičíkovce si tedy musí *Naegleria* vždy syntetizovat celý mikrotubulární aparát (včetně bazálních tělísek a bičíků) znovu. Kompletní přeměna z améby na bičíkovce trvá podle literatury přibližně dvě hodiny (Walsh 2007). Mikrotubulární cytoskelet se začíná tvořit mezi 50. a 60. minutou od začátku přeměny, kdy syntéza mikrotubulů začíná už po 20 až 25 minutách a první prokazatelně pozorovatelné mikrotubulární struktury se objevují po 40 minutách od začátku přeměny (Walsh 2007). Vedle této dvouhodinové transformace z améby na bičíkovce je ovšem doložen ještě jeden zajímavý jev, který zůstává poněkud stranou zájmu, protože pozornost je u naeglerie zaměřena na detailní studium *de*

novo syntézy mikrotubulárních struktur. Bylo pozorováno, že se bičíkovec dokáže během vteřin stát améboidním a poté se zase zpět vrátit do neaméboidního stavu při zachování bičíků a dalších mikrotubulárních struktur (Fulton 1977; Walsh 2007). To je totiž jev, který můžeme pozorovat u organismů z odlišných říší. Komparativní studium mechanismů „amébizace“ bičíkovce by tak mohlo být cenné z hlediska jejich původu.

Závěr

Pokud jsme vyšli z předpokladu, že se v případě přeměny mezi bičíkovcem a měňavkou jedná o v přírodě řídký jev, jak podotýká Gould et al. 2013, po výčtu případů v této práci musíme konstatovat, že tomu tak rozhodně není ani v případě zmíněných améboflagelátů, ani v případě améboidních bičíkovců. Cílem této rešerše nebylo ani tak podat odpověď na otázku, jaká je reálná diverzita améboidní bičíkovců a améboflagelátů, jako spíš ukázat určité souvislosti a otázky vyvolat – což je, jak se domníváme, pravý smysl rešerše. Nakonec tedy není stěžejní ani provedená klasifikace, tedy který organismus jsme kam zařadili, ale spíš samotné popsání spleti vztahů a obtížnosti této klasifikace. Ukázalo se, že komplexní životní cykly s více formami či stádii jsou mezi protisty poměrně častý jev. Jedna z otázek je, zda byla přeměna améboflagelátů součástí komplexních životních cyklů společného předka některých nebo i všech skupin eukaryotních organismů, podobně jak o tom uvažují autoři v případě amoebozoí (Kang et al. 2017), nebo zda jde o sekundární a paralelní adaptace. A vždycky je tu ještě možnost kombinace obojího. Dlouhodobá kultivace s nadbytkem potravy (bakterií) má zřejmě stejný vliv jako život početných generací ve stabilním prostředí třeba jako endosymbionta. Schopnost nabývat určité fenotypy se může jednak ztrácet, bylo pozorováno, že améboflageláti po větším počtu generací v kultivačních kulturách ztrácí schopnost přeměny v bičíkovce (ať už vlivem nepřítomností potřebných faktorů, nebo prostě ztrátou příslušných genů) (Pánek et al. 2014; Gruber et al. 2017; Tábořský et al. 2017). A jednak se může získávat. U po delší čas kultivované linie trichomonád byl pozorován častý výskyt silně améboidního fenotypu, který dříve u příslušného druhu pozorován nebyl (Gruber et al. 2017). V obou případech dochází k posunutí fenotypu směrem k měňavkovité formě. Při výzkumu životních cyklů je proto nutné počítat i s možnými artefakty, ačkoli je dost komplikovanou otázkou, v jakém smyslu chápat samotné artefakty. V tomto směru by mohly přispět k vyjasnění životních cyklů (jak se ukazuje u pelomyxy) (Archibald et al. 2017) paralelní kultivace v tzv. mikrokosmech, tedy poněkud komplexnějších prostředích více odpovídajících přírodnímu habitatu, namísto běžných laboratorních kultur.

Citovaná literatura

- Adl, S. M., Simpson, A. G. B., Lane, C. E., Lukeš, J., Bass, D., ... Spiegel, F. W. (2012). The revised classification of eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 59(5), 429–493.
- Adl, S. M., Bass, D., Lane, C. E., Lukeš, J., Schoch, C. L., Smirnov, A., ... Zhang, Q. (2019). Revisions to the classification, nomenclature, and diversity of eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 66(1), 7–119.
- Archibald, J. M., Simpson, A. G. B., & Slamovits, C. H., eds. (2017). Handbook of the Protists Second Edition. Cham: Springer, 1657p.
- Bass, D., Howe, A. T., Mylnikov, A. P., Vickerman, K., Chao, E. E., Smallbone, J. E., ... Cavalier-Smith, T. (2009). Phylogeny and classification of Cercomonadida (Protozoa, Cercozoa): *Cercomonas*, *Eocercomonas*, *Paracercomonas*, and *Cavernomonas* gen. nov. *Protist*, 160(4), 483–521.
- Bernard, C., Simpson, A. G. B., & Patterson, D. J. (2000). Some free-living flagellates (protista) from anoxic habitats. *Ophelia*, 52(2), 113–142.
- Berney, C., Geisen, S., Wichelen, J. Van, & Nitsche, F. (2015). Expansion of the 'reticulosphere': Diversity of novel branching and network-forming Amoebae helps to define Variosea (Amoebozoa). *Protist*, 166(2), 271–295.
- Brabender, M., Kiss, Á. K., Domonell, A., Nitsche, F., & Arndt, H. (2012). Phylogenetic and morphological diversity of novel soil cercomonad species with a description of two new genera (*Nucleocercomonas* and *Metabolomonas*). *Protist*, 163(4), 495–528.
- Broers, C. A. M., Stumm, C. K., Vogels, G. D., & Brugerolle, G. (1990). *Psalteriomonas lanterna* gen. nov., sp. nov., a free-living amoeboflagellate isolated from freshwater anaerobic sediments. *European Journal of Protistology*, 25(4), 369–380.
- Brown, M. W., Sharpe, S. C., Silberman, J. D., Heiss, A. A., Lang, B. F., ... Roger, A. J. (2013). Phylogenomics demonstrates that breviate flagellates are related to opisthokonts and apusomonads. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1769), 20131755.
- Brown, M. W., Heiss, A. A., Kamikawa, R., Inagaki, Y., Yabuki, A., ... Roger, A. J. (2018). Phylogenomics places orphan protistan lineages in a novel eukaryotic super-group. *Genome Biology and Evolution*, 10(2), 427–433.
- Brugerolle, G. (2005). Amoeboid stage of *Gigantomonas herculea* (Parabasalia) attached to the hindgut of the termite host *Hodotermes mossambicus*. *Acta Protozoologica*, 44(3), 285–288.
- Brugerolle, G., & Simpson, A. G. B. (2004). The Flagellar apparatus of heteroloboseans. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51(1), 96–107.
- Bunting, M. (1922). A preliminary note on *Tetramitus*, a stage in the life cycle of a coprozoic amoeba. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 8(10), 294–300.
- Cavalier-Smith, T., & Chao, E. E. (2003a). Phylogeny of *Choanozoa*, *Apusozoa*, and other Protozoa and early eukaryote megaevolution. *Journal of Molecular Evolution*, 56(5), 540–563.
- Cavalier-Smith, T., & Chao, E. E. (2003b). Phylogeny and classification of phylum Cercozoa (Protozoa). *Protist*, 154(3–4), 341–358.
- Cavalier-Smith, T., & Chao, E. E. (2010). Phylogeny and evolution of Apusomonadida (Protozoa: Apusozoa): New genera and species. *Protist*, 161(4), 549–576.
- Cavalier-Smith, T., & Karpov, S. A. (2012). *Paracercomonas* kinetid ultrastructure, origins of the body plan of Cercomonadida, and cytoskeleton evolution in Cercozoa. *Protist*, 163(1), 47–75.
- Čepička, I. (2011). *Rhizomastix biflagellata* sp. nov., a new amoeboflagellate of uncertain phylogenetic position isolated from frogs. *European Journal of Protistology*, 47(1), 10–15.
- De Jonckheere, J. F. (2004) Molecular definition and the ubiquity of species in the genus *Naegleria*. *Protist*, 55(1), 89–103.
- De Jonckheere, J. F., Baumgartner, M., Eberhardt, S., Opperdoes, F. R., & Stetter, K. O. (2011). *Oramoeba fumarolia* gen. nov., sp. nov., a new marine heterolobosean amoeboflagellate growing at 54°C. *European Journal of Protistology*, 47(1), 16–23.

- Flues, S., Blokker, M., Dumack, K., & Bonkowski, M. (2018). Diversity of cercomonad species in the phyllosphere and rhizosphere of different plant species with a description of *Neocercomonas epiphylla* (Cercozoa, Rhizaria) a leaf-associated protist. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 65(5), 587–599.
- Fritz-Laylin, L. K., & Fulton, C. (2016). *Naegleria*: A classic model for *de novo* basal body assembly. *Cilia*, 5(10), 1–6.
- Frolov, A. O., Chystjakova, L. V., & Malysheva, M. N. (2010). Light and electron-microscopical study of *Pelomyxa flava* sp. n. (Archamoebae, Pelobiontida). *Cell and Tissue Biology*, 52(9), 776–84.
- Fulton, C. (1970). Transformation of *Tetramitus* amebae into flagellates. *Science, New Series*, 167(3922), 1269–1270.
- Frey, W. ed. (2012) Syllabus of Plants Families. Stuttgart: Gebrüder Borntraeger, 178p.
- Fulton, C., & Dingle, A. D. (1971). Basal bodies, but not centrioles, in *Naegleria* centriole-like structures appear during transformation. *The Journal of Cell Biology*, 51(3), 826–836.
- Fulton, C. (1977). Intracellular regulation of cell shape and motility in *Naegleria*. First insights and a working hypothesis. *Journal of Supramolecular and Cellular Biochemistry*, 6(1), 13–43.
- Glücksman, E., Snell, E. A., Berney, C., Chao, E. E., Bass, D., & Cavalier-smith, T. (2011). The novel marine gliding zooflagellate genus *Mantamonas* (Mantamonadida ord. n.: Apusozoa). 162(2), 207–221.
- Glyn, M., & Gull, K. (1990). Flagellum retraction and axoneme depolymerisation during the transformation of flagellates to amoebae in *Physarum*. *Protoplasma*, 158(3), 130–141.
- Gould, S. B., Woehle, C., KUSDian, G., Landan, G., Tachezy, J., ... Martin, W. F. (2013) Deep sequencing of *Trichomonas vaginalis* during the early infection of vaginal epithelial cells and amoeboid transition. *International Journal for Parasitology*. 43(9), 707–719.
- Gruber, J., Ganas, P., & Hess, M. (2017). Long-term *in vitro* cultivation of *Histomonas meleagridis* coincides with the dominance of a very distinct phenotype of the parasite exhibiting increased tenacity and improved cell yields. *Parasitology*, 144(9), 1253–1263.
- Hamann, E., Gruber-Vodicka, H., Kleiner, M., Tegetmeyer, H. E., Riedel, D., ... Strous, M. (2016). Environmental Breviatea harbour mutualistic *Arcobacter* epibionts. *Nature*, 534(7606), 254–258.
- Harder, C. B., Ekelund, F., & Karpov, S. A. (2014). Ultrastructure and phylogenetic position of *Regin rotiferus* and *Otto terricolus* genera et species novae (Bicosoecida, Heterokonta/Stramenopiles). *Protist*, 165(2), 144–160.
- Harding, T., Brown, M. W., Plotnikov, A., Selivanova, E., Park, J. S., Gunderson, J. H., ... Simpson, A. G. B. (2013). Amoeba stages in the deepest branching heteroloboseans, including *Pharyngomonas*: Evolutionary and systematic implications. *Protist*, 164(2), 272–286.
- Heiss, A. A., Walker, G., & Simpson, A. G. B. (2013). The flagellar apparatus of *Breviata anathema*, a eukaryote without a clear supergroup affinity. *European Journal of Protistology*, 49(3), 354–372.
- Hess, S., & Melkonian, M. (2013). The mystery of clade X: *Orciraptor* gen. nov. and *Viridiraptor* gen. nov. are highly specialised, algivorous amoeboflagellates (Glissomonadida, Cercozoa). *Protist*, 164(5), 706–747.
- Hess, S., & Melkonian, M. (2014). Ultrastructure of the algivorous amoeboflagellate *Viridiraptor invadens* (Glissomonadida, Cercozoa). *Protist*, 165(5), 605–635.
- Hibberd, D. J., & Chretiennot-Dinet, M.-J. (1979). The ultrastructure and taxonomy of *Rhizochromulina marina* gen. et sp. nov., an amoeboid marine chrysophyte. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 59, 179–193.
- Honigberg, B. M., & Bennet, C. J. (1971). Lightmicroscopic observations on structure and division of *Histomonas meleagridis* (Smith). *The Journal of Protozoology*, 18(4), 687–697.
- Hoppenrath, M., & Leander, B. S. (2006). Dinoflagellate, euglenid, or cercomonad? The ultrastructure and molecular phylogenetic position of *Protaspis grandis* n. sp. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 53(5), 327–342.

- Howe, A. T., Bass, D., Vickerman, K., Chao, E. E., & Cavalier-Smith, T. (2009). Phylogeny, taxonomy, and astounding genetic diversity of Glissomonadida ord. nov., the dominant gliding zooflagellates in soil (Protozoa: Cercozoa). *Protist*, 160(2), 159–189.
- Howe, A. T., Bass, D., Chao, E. E., & Cavalier-Smith, T. (2011). New genera, species, and improved phylogeny of Glissomonadida (Cercozoa). *Protist*, 162(5), 710–722.
- Chantangsi, C., & Leander, B. S. (2010). Ultrastructure, life cycle and molecular phylogenetic position of a novel marine sand-dwelling Cercozoan: *Clautriavia biflagellata* n. sp. *Protist*, 161(1), 133–147.
- Chystjakova, L. V., Miteva, O. A., & Frolov, A. O. (2012). Morphology of *Mastigamoeba aspera* Schulze, 1875 (Archamoebae, Pelobiontida). *Tsitologiya*, 54(1), 58–65.
- Chystjakova, L. V., Berdieva, M. A., Frolov, A. O., & Goodkov, A. V. (2014). Reisolation and redescription of pelobiont *Pelomyxa paradoxa* Penard, 1902 (Archamoebae, Pelobiontida). *Cell and Tissue Biology*, 8(6), 504–512.
- Kang, S., Tice, A. K., Spiegel, F. W., Silberman, J. D., Roger, A. J., Lora, L., ... Brown, M. W. (2017). Between a pod and a hard test: The deep evolution of Amoeboae. 34(9), 2258–2270.
- Karpov, S. A., Bass, D., Mylnikov, A. P., & Cavalier-Smith, T. (2006). Molecular phylogeny of Cercomonadidae and kinetid patterns of *Cercomonas* and *Eocercomonas* gen. nov. (Cercomonadida, Cercozoa). *Protist*, 157(2), 125–158.
- Katz, L. A., Grant, J., Wegener, L., Gant, A., Kelly, C. J. O., Anderson, O. R., ... Nerad, T. (2011). *Subulatomonas tetraspora* nov. gen. nov. sp. is a member of a previously unrecognized major clade of eukaryotes. 162(5), 762–773.
- Kirby, W. A., Tikhonenkov, D. V., Mylnikov, A. P., Janouškovec, J., Lax, G., & Simpson, A. G. B. (2015). Characterization of *Tulamoeba bucina* n. sp., an extremely halotolerant amoeboid flagellate heterolobosean belonging to the *Tulamoeba-Pleurostomum* clade (Tulamoebidae n. fam.). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 62(2), 227–238.
- Klaveness, D. (1995). *Collodictyon triciliatum* H. J. Carter (1865) – a common but fixation-sensitive algalivorous flagellate from the limnoplagic. *Nordic Journal of Freshwater Research*, 70, 3–11.
- Kusdian, G., Woehle, C., Martin, W. F., & Gould, S. B. (2013). The actin-based machinery of *Trichomonas vaginalis* mediates flagellate-amoeboid transition and migration across host tissue. *Cellular Microbiology*, 15(10), 1707–1721.
- Larsen, J., & D. J. Patterson, D. J. (1990). Some flagellates (Protista) from tropical marine sediments. *Journal of Natural History*, 24(4), 801–937.
- Mikrjukov, K. A., & Mylnikov, A. P. (1998). The fine structure of a carnivorous multiflagellar protist, *Multicilia marina* Cienkowski, 1881 (flagellata incertae sedis). *European Journal of Protistology*, 34(4), 391–401.
- Mylnikov, A. P., Weber, F., Jürgens, K., & Wylezich, C. (2015). *Massisteria marina* has a sister: *Massisteria voersi* sp. nov., a rare species isolated from coastal waters of the Baltic Sea. *European Journal of Protistology*, 51(4), 299–310.
- Mylnikov, A. P., & Mylnikova, Z. M. (2017). Structure of the cell of the amoeboid flagellate *Thaumatomonas coloniensis* Wylezich et al., 2007 (Thaumatomonadida (Shirkina) Karpov, 1990). *Inland Water Biology*, 10(1), 22–27.
- Nelson R. K., Scheetz R. W. (1975). Swarm cell ultrastructure in *Ceratiomyxa fruticulosa*. *Mycologia*, 67(4), 733–740
- Nikolajev, S. I. (2006). Phylogenetic position of *Multicilia marina* and the evolution of Amoebozoa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(6), 1449–1458.
- Ohta, T., Kawano, S., & Kuroiwa, T. (1991). Migration of the cell nucleus during the amoeboid-flagellate transformation of *Physarum polycephalum* is mediated by an actin-generated force that acts on the centrosome. *Protoplasma*, 163(2–3), 114–124.
- Ohta, T., Kawano, S., & Kuroiwa, T. (1993). Restriction of amoeboid-flagellate (AF) transformation to interphase is related to M phase replication of the centrosome complex in the amoebae of the true slime mould, *Physarum polycephalum*: A three-dimensional approach. *Journal of Structural Biology*, 111(2), 105–117.

- Olive, L. S., & Stoianovitch, C. (1971). A new genus of protostelids showing affinities with *Ceratiomyxa*. *American Journal of Botany*, 58(1), 32–40.
- Outka, D. E., & Kluss, B. C. (1967). The ameba-to-flagellate transformation in *Tetramitus rostratus*: II. microtubular morphogenesis. *Journal of Cell Biology*, 35(2), 323–346.
- Pánek, T. (2014). *Creneis carolina* gen. et sp. nov. (Heterolobosea), a novel marine anaerobic protist with strikingly derived morphology and life cycle. *Protist*, 165(4), 542–567.
- Pánek, T., Zadrobílková, E., Walker, G., Brown, M. W., Gentekaki, E., Hroudová, M., ... Čepička, I. (2016). First multigene analysis of Archamoebae (Amoebozoa: Conosa) robustly reveals its phylogeny and shows that Entamoebidae represents a deep lineage of the group. *Molecular Phylogeny and Evolution*, 98, 41–51.
- Patterson, D. J., Nygaard, K., Steinberg, G., & Turley, C. M. (1993). Heterotrophic flagellates and other protists associated with oceanic detritus throughout the water column in the mid North Atlantic. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 73(1), 67–95.
- Pekkarinen, M., Lom, J., Murphy, C. A., Ragan, M. A., & Dyková, I. (2003). Phylogenetic position and ultrastructure of two *Dermocystidium* species (Ichthyosporea) from the common perch (*Perca fluviatilis*). *Acta Protozoologica*, 42(4), 287–307.
- Plotnikov, A. O., Mylnikov, A. P., & Selivanova, E. A. (2015). Morphology and life cycle of amoeboflagellate *Pharyngomonas* sp. (Heterolobosea, Excavata) from hypersaline inland Razval Lake. *Biology Bulletin*, 42(9), 759–769.
- Preston, T. M., & King, C. A. (2003). Locomotion and phenotypic transformation of the amoeboflagellate *Naegleria gruberi* at the water-air interface. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 50(4), 245–251.
- Ptáčková, E., Kostygov, A. Y., Chistyakova, L. V., Falteisek, L., Frolov, A. O., Patterson, D. J., ... Čepička, I. (2013). Evolution of Archamoebae: Morphological and molecular evidence for pelobionts including *Rhizomastix*, *Entamoeba*, *Iodamoeba*, and *Endolimax*. *Protist*, 164(3), 380–410.
- Rogerson, A., Hannah, F. J., & Anderson, O. R. (1998). A redescription of *Rhabdamoeba marina*, an inconspicuous marine amoeba from benthic sediments. *Invertebrate Biology*, 117(4), 261–270.
- Saville Kent, W. (1880–1882) A manual of the infusoria, including a description of all known flagellate, ciliate, and tentaculiferous protozoa, British and foreign and an account of the organization and affinities of the sponges London: David Bogue, 3, 234p.
- Scheetz, R. W., Nelson, R. K., & Carlson, E. C. (1980). Scanning electron microscopy of *Ceratiomyxa fruticulosa*. *Canadian Journal of Botany*, 58(3), 392–400.
- Schwelm, A., Fogelqvist, J., Knaust, A., Jülke, S., Lilja, T., Bonilla-Rosso, G., ... Dixelius, C. (2015). The *Plasmodiophora brassicae* genome reveals insights in its life cycle and ancestry of chitin synthases. *Scientific Reports*, 5(1), 1–12.
- Shadwick, L. L., Spiegel, F. W., Shadwick, J. D. L., Brown, M. W., & Silberman, J. D. (2009). Eumycetozoa = Amoebozoa?: SSUrDNA phylogeny of protosteloid slime molds and its significance for the amoebozoan supergroup. *PLoS ONE*, 4(8), e6754.
- Shiratori, T., Yabuki, A., & Ishida, K.-I. (2012). *Esquamula lacrimiformis* n. g., n. sp., a new member of thaumatomonads that lacks siliceous scales. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 59(6), 527–536.
- Simpson, A. G. B., Bernard, C., Fenchel, T., & Patterson, D. J. (1997). The Organisation of *Mastigamoeba schizophrenia* n. sp.: More evidence of ultrastructural idiosyncrasy and simplicity in pelobiont protists. *European Journal of Protistology*, 31(1), 87–98.
- Skovgaard, A., & Daugbjerg, N. (2008). Identity and systematic position of *Paradinium poucheti* and other *Paradinium*-like parasites of marine copepods based on morphology and nuclear-encoded SSU rDNA. *Protist*, 159(3), 401–413.
- Smirnov, A. V., Chao, E. E., Nasonova, E. S., & Cavalier-Smith, T. (2011). A revised classification of naked lobose amoebae (Amoebozoa: Lobosa). *Protist*, 162(4), 545–570.
- Spiegel, F. W. (1982) The ultrastructure of the trophic cells of the protostelid *Planoprotostelium aurantium*, *Protoplasma*, 113(3), 165–177.
- Spiegel, F. W., & Feldman, J. (1991). Microtubular cytoskeletons of the trophic cells of five eumycetozoans. *Protoplasma*, 163(2–3), 189–198.

- Strittmatter, M., Guerra, T., Silva, J., & Gachon, C. M. M. (2016). A new flagellated dispersion stage in *Paraphysoderma sedebokerense*, a pathogen of *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Applied Phycology*, 28(3), 1553–1558.
- Swale, E. M. F. (1969). The fine structure of a species of the amoeba-flagellate *Pseudospora* Cienk. *Archiv für Mikrobiologie*, 67(1), 71–90.
- Táborský, P., Pánek, T., & Čepička, I. (2017). Anaeramoebidae fam. nov., a novel lineage of anaerobic amoebae and amoeboflagellates of uncertain phylogenetic position. *Protist*, 168(5), 495–526.
- Tong, S. M. (1997). Heterotrophic flagellates and other protists from Southampton Water, U.K. *Ophelia*, 47(2), 71–131.
- Torruella, G., De Mendoza, A., Grau-Bové, X., Antó, M., Chaplin, M. A., Del Campo, J., ... Ruiz-Trillo, I. (2015). Phylogenomics reveals convergent evolution of lifestyles in close relatives of animals and fungi. *Current Biology*, 25(18), 2404–2410.
- Uyeda, T. Q. P., & Furuya, M. (1985). Cytoskeletal changes visualized by fluorescence microscopy during amoeba-to-flagellate and flagellate-to-amoeba transformations in *Physarum polycephalum*. *Protoplasma*, 126(3), 221–232.
- Vickerman, K., Appleton, P. L., Clarke, K. J., & Moreira, D. (2005). *Aurigamonas solis* n. gen., n. sp., a soil-dwelling predator with unusual helioflagellate organisation and belonging to a novel clade within the Cercozoa. *Protist*, 56(3), 335–354.
- Walker, G., Dacks, J. B., & Martin Embley, T. (2006). Ultrastructural Description of *Breviata anathema*, n. gen., n. sp., the organism previously studied as "*Mastigamoeba invertens*". *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 53(2), 65–78.
- Walsh, C. J. (2007). The role of actin, actomyosin and microtubules in defining cell shape during the differentiation of *Naegleria* amebae into flagellates. *European Journal of Cell Biology*, 86(2), 85–98.
- Wylezich, C., Mylnikov, A. P., Weitere, M., & Arndt, H. (2007). Distribution and phylogenetic relationships of freshwater thaumatomonads with a description of the new species *Thaumatomonas coloniensis* n. sp. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 54(4), 347–357.
- Yabuki, A., & Ishida, K. (2018). An Orphan Protist *Quadricilia rotundata* finally finds its phylogenetic home in Cercozoa. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 65(5), 729–732.
- Zadrobílková, E., Walker, G., & Čepička, I. (2015). Morphological and molecular evidence support a close relationship between the free-living archamoebae *Mastigella* and *Pelomyxa*. *Protist*, 166(1), 14–41.
- Zadrobílková, E., Smejkalová, P., Walker, G., & Čepička, I. (2016). Morphological and molecular diversity of the neglected genus *Rhizomastix* Alexeieff, 1911 (Amoebozoa: Archamoebae) with description of five new species. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 63(2), 181–197.
- Zhao, S., Burki, F., Brte, J., Keeling, P. J., Klaveness, D., & Shalchian-Tabrizi, K. (2012). Collodictyon-an ancient lineage in the tree of eukaryotes. *Molecular Biology and Evolution*, 29(6), 1557–1568.